

11261
10
E32



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado

**ESTUDIO DE HONGOS AMBIENTALES
COMO PRODUCTORES DE ALERGIAS
RESPIRATORIAS EN POBLACION
PEDIATRICA**

T E S I S

Q u e p r e s e n t a l a :

M. C. Dora Ruiz Sánchez

Para optar por el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOMEDICAS

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN
México, D. F.**

1993



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

Se estudió la participación de los hongos anemófilos en alergias presentes en población infantil de la Ciudad de México.

Este estudio se condujo de la siguiente manera:

- a) Observar la variación estacional de estos hongos durante el transcurso de un año, mediante la práctica de muestreos en exteriores, en 6 sub-zonas de la Zona Sur de la Ciudad de México. Como resultados se obtuvieron mayor densidad de hongos en aquellas zonas con mayor vegetación, así como en los meses de la estación lluviosa. Los géneros que se aislaron con mayor frecuencia fueron: Phialophora (51.99%) Penicillium (18.65%) y Alternaria (16.04%).
- b) Efectuar una revisión retrospectiva de 10 años, de expedientes clínicos de niños con alergias de agentes ambientales dando mayor atención a aquéllos alérgicos a hongos. Los expedientes se obtuvieron del Archivo Clínico del Instituto Nacional de Pediatría dependiente de la S.S.A. Al respecto, se encontró un 40% de niños alérgicos a hongos, con un diagnóstico clínico, en su mayoría de asma bronquial.
- c) Establecer una correlación entre pruebas cutáneas positivas a hongos y la presencia de éstos en el ambiente circundante a los pacientes. Esta correlación se efectuó por medio del muestreo intradomiciliario de 100 casos de niños alérgicos a hongos, que asistían a la Consulta Externa del Servicio de Alergia del Instituto Nacional de Pediatría. La correlación estableció una positividad del 89%. En ambos estudios los géneros que mostraron ser los principales causantes de alergia fueron: Aspergillus, Alternaria, Phialophora y Candida.
- d) Elaborar antígenos de los géneros de hongos considerados en el estudio como los principales causantes de alergias. De todos los hongos se extrajeron metabólicos, a excepción de Candida, el cual fue somático. A todos los antígenos se les concentró a 10 veces su volumen y posteriormente les fueron determinadas sus concentraciones de proteínas y carbohidratos. Los valores obtenidos presentaron concentraciones adecuadas para que los antígenos puedan ser usados en pruebas serológicas para el diagnóstico de alergias.

SUMMARY

The participation of microaerophilic fungi in pediatric allergies in Mexico City was studied.

This studied was conducted as follows:

- a) Observation of the seasonal changes within a year, by sampling outdoor spaces at six Southern zones of Mexico City. The results showed that the fungal density is higher at those zones plenties of vegetation and also the isolations were mayor during the rainy weather those genera mostly isolated were: Phialophora (51.99%) Penicillium (18.65%) and Alternaria (16.04%).
- b) A 10 years retrospective revision of clinical records of allergic children to several environmental factors, putting special attention to those allergic to fungi. Those records were obtained from the Clinical Archive of the National Institute of Pediatrics, dependent of the Health Secretary. Forty percent of fungi allergic children was found, most of them with a clinical diagnostic of bronchial asthma.
- c) Correlation between positive skin tests and the presence at allergic children homes of responsible fungi. One hundred houses were sampled, establishing a positive correlation in 89 percent. Genera most responsible were: Aspergillus Alternaria, Phialophora and Candida in both studies.
- d) Elaboration of fungal antigens from those fungi considered as principal allergic agents. Metabolic antigens of all these genera, were prepared, except Candida wich were somatic preparation. All antigens were concentrated to ten times in volume and concentrations of proteins and carbohydrates were determined. The amount of these substances gave the adequate concentrations for the antigens could be used in serologic tests for the allergies diagnosis.

CONTENIDO TEMATICO

	<u>Pag.</u>
I. INTRODUCCION	1
A) LOS HONGOS ANEMOFILOS COMO ALERGENOS	1
a) Partículas contenidas en el aire	5
b) Características fundamentales de los hongos	7
c) Naturaleza de los hongos anemófilos	9
d) Géneros más frecuentes	15
e) Contacto de las partículas fúngicas productoras de alergias con la mucosa respiratoria	16
B) FACTORES DE ALEGIAS RESPIRATORIAS EN POBLACION PEDIATRICA	18
a) Factores genéticos y hereditarios	19
b) Factores inmunológicos	21
c) Factores ambientales	23
C) DIAGNOSTICO DE ALEGIAS RESPIRATORIAS POR HONGOS AMBIENTALES	25
a) Características clínicas	25
1) Rinitis	25
2) Bronquitis	25
3) Asma	25
4) Conjuntivitis	25
5) Complicaciones	25

b)	Métodos auxiliares de diagnóstico	29
1)	Pruebas cutáneas	29
2)	Pruebas serológicas	29
D)	MANEJO TERAPEUTICO INESPECIFICO	33
a)	Inmunoterapia	33
b)	Fármacos:	33
	antihistámnicos - corticosteroides	33
II.	ANTECEDENTES HISTORICOS	38
III.	OBJETIVOS	45
IV.	MATERIAL Y METODO	46
A)	ESTUDIOS DE FRECUENCIA Y VARIACION ESTACIONAL	46
B)	ESTUDIOS DE CORRELACION ENTRE ALERGIAS CLINICAS Y AISLAMIENTO DE LOS HONGOS CAUSANTES	65
a)	Estudio retrospectivo	65
b)	Estudio prospectivo	65
C)	ELABORACION DE ANTIGENOS	66
D)	REACCIONES SEROLOGICAS	66
V.	RESULTADOS	70
A)	FRECUENCIA Y VARIACION ESTACIONAL	70
B)	CORRELACION ENTRE ALERGIAS Y AISLAMIENTO DE HONGOS	79
a)	Estudio retrospectivo	79
b)	Estudio prospectivo	85

C)	ELABORACION DE ANTIGENOS	90
VI.	DISCUSION Y CONCLUSIONES	91
VII.	BIBLIOGRAFIA	96

INDICE DE TABLAS

	<u>Pág.</u>
TABLA II	8
TABLA III	27
TABLA IV	42
TABLA V	72
TABLA VI	73
TABLA VII	74
TABLA VIII	81
TABLA IX	83
TABLA X	84
TABLA XI	87
TABLA XII	88
TABLA XIII	89
TABLA XIV	90

I. INTRODUCCION

A) LOS HONGOS ANEMOFILOS COMO ALERGENOS

- a) Partículas contenidas en el aire
- b) Características fundamentales de los hongos
- c) Naturaleza de los hongos anemófilos
- d) Géneros más frecuentes
- e) Contacto de las partículas fúngicas productoras de alergias con la mucosa respiratoria

El desarrollo y las manifestaciones de alergias a hongos, siguen las mismas leyes naturales de otras alergias a otros agentes ambientales. Las alergias dependen de la liberación de anticuerpos reagénicos (IgE), que son los más importantes desde el punto de vista inmunológico, en lo que a fenómenos alérgicos se refiere (5, 23, 73, 77, 82). Otro tipo de anticuerpos que se producen son los del tipo IgG (47,85,100), que aunque su participación es menor, pueden activar la cascada del complemento (96).

Las características de la molécula inmunógena que causa la primera activación del sistema IgE son desconocidas, pero parece ser que los determinantes antigénicos son de idéntica naturaleza a aquellos que desencadenan las reacciones de hipersensibilidad-tardía (4, 47, 85, 101).

Existen varios factores del hospedero importantes para la sensibilización por el sistema IgE, tales como predisposición genética, exposición al alérgeno, ruta de entrada de éste, microcirculación local y factores homeostáticos, siendo quizá el más importante el factor genético; sin embargo, una intensa exposición a los agentes con un potencial antigénico apropiado es esencial (69).

La evidencia clínica ha demostrado que la abundancia de hongos microaerofílicos representa un factor de exposición para aquellos individuos susceptibles, ya que desde los tiempos de Blackeley se ha sabido que la inhalación de esporas de hongos ambientales puede producir síntomas respiratorios (21).

Las esporas como tales, y sus metabolitos secretados dentro del árbol respiratorio, interaccionan con células cebadas específicamente sensibilizadas dentro de las vías respiratorias y tejidos. Debido al pequeño tamaño de las esporas, los hongos son más capaces de sensibilizar y provocar reacciones alérgicas en las vías respiratorias bajas, que en la mucosa nasal. La incidencia actual de rinitis y asma inducidas por esporas fúngicas no se puede correlacionar, ya que la localización geográfica, la topografía regional y el clima son factores que la hacen variar (4).

Cuando las partículas fúngicas son inhaladas, encuentran -

una serie de barreras fisiológicas que contienen anticuerpos, lo cual facilita la inmediata eliminación de los antígenos.

Se ha demostrado que los antígenos que activan el sistema-IgE son proteínas, glicoproteínas o haptenos unidos a proteínas. Los alérgenos que han sido caracterizados, comparten características moleculares entre sí, aunque una molécula de proteína pueda actuar por sí sola como alérgeno en un individuo que posea una predisposición genética para responder a estos estímulos (3).

Una de las más notables propiedades de los alérgenos fúngicos es su complejidad, la que se ha demostrado por medio de reacciones de inmunoelectroforesis, por las que se han separado más de 60 inmunoprecipitados en los diferentes hongos causantes de alergia. Adicionalmente, cada alérgeno puede ser heterogéneo, conteniendo 5 variantes antigénicas como mínimo (11).

Un paciente generalmente presenta diferentes reacciones cutáneas positivas a diferentes géneros de hongos, lo cual demuestra que en efecto se pueden presentar reacciones cruzadas, fenómeno que ha sido ampliamente confirmado por varios trabajos de investigación (86).

La estandarización biológica de un alérgeno es un medio útil para definir su potencia, ya que se puede concentrar y utilizar para pruebas cutáneas en grupos de pacientes con una relevancia

te sensibilidad a dicho alérgeno. Esto es importante, porque se pueden presentar reacciones que pueden confundir el diagnóstico, con falsas positivas tanto en pruebas cutáneas, como en desafíos bronquiales, intranasales o intradérmicos (2, 23, 51). La concentración del extracto alérgeno también es importante para poder hacer una valoración confiable del estado alérgico del paciente.

Un alérgeno es una sustancia que produce una reacción clínica llamada "alergia". Posterior a la definición de Von Pirquet, se definió la alergia en términos de un mecanismo inmunológico que alteraba la fisiología normal de un organismo, pudiendo provocar patologías muy severas. Los criterios que se siguen para establecer un estado alérgico son:

- Identificación del alérgeno
- Establecimiento de una relación entre la exposición al alérgeno y la aparición de los síntomas
- La identificación de los mecanismos involucrados en la reacción

Los alérgenos son antígenos en el sentido de que se encuentran asociados con cierta clase particular de anticuerpos llamados anticuerpos sensibilizantes, los que pueden ser reagentes o anticuerpos citotóxicos fijados a las células de una misma especie, por lo que se dice entonces que un alérgeno es aquel que -

puede ser demostrado por medio de una reacción obtenida por pruebas cutáneas (28, 36, 51, 83), aunque en variadas ocasiones se encuentran situaciones contradictorias a este respecto, pues estas mismas reacciones se presentan cuando se forman otro tipo de anticuerpos o bien, cuando se desencadenan respuestas inmunes - (tipo II, III ó IV), o cuando hay exposición a ciertas drogas u otras sustancias que inducen estos tipos de reacciones (93). Con base en estos fenómenos, se ha decidido dar el nombre de alérgeno a toda aquella sustancia que sea capaz de desencadenar una reacción inmunológica de cualquier tipo (22, 44).

Las drogas, productos biológicos, piquetes de insectos y productos inorgánicos, pueden inducir reacciones de hipersensibilidad tanto inmediata como retardada (44). En la práctica; sin embargo, la mayoría de las reacciones atópicas se ven ocasionadas por pólenes (15), hongos (4, 12, 17, 18, 30, 49, 68, 77, 88) polvo casero (38, 52, 53), pelos de animales (41, 51) y/u otras sustancias que se impregnan directamente en la mucosa respiratoria, siendo generalmente sustancias solubles en agua las que son alcanzadas por los anticuerpos, iniciándose así los mecanismos fisiopatológicos que provocan los síntomas.

a) Partículas contenidas en el aire

La presencia de abundantes partículas suspendidas en el ambiente ha causado inquietud entre los profesionales de la salud,

debido a la multitud de problemas de tipo médico que ocasionan, - siendo éstos muy variados, tales como dermatitis y problemas respiratorios entre otros; estos últimos son sumamente importantes, debido a su prevalencia en poblaciones susceptibles, sobre todo la infantil, en cuyo caso, predominan los cuadros asmáticos.

Las partículas existentes en el aire pueden ser de las más diversas naturalezas, desde materiales inertes hasta seres vivos tales como pólenes, bacterias, virus, protozoos, hongos, algunos ácaros habitantes de prendas de cama y polvo casero, los que con mucha frecuencia causan diversos tipos de alergias, sobre todo en niños (27, 88).

Las manifestaciones de estas alergias pueden ser sumamente variadas, de acuerdo a la naturaleza de la partícula alergena, - pero sobre todo a la susceptibilidad del hospedero afectado, interviniendo en cualquier caso, una serie de complejos mecanismos inmunológicos y no inmunológicos.

Para que una partícula aérea sea alergena debe tener un tamaño que oscile entre 1 a 30 micrómetros (μ) (19), y encontrarse en cantidades suficientes en el ambiente que rodea al individuo afectado (57). Los hongos se han identificado como unos de los principales agentes alérgenos por lo que es de suma importancia su identificación y conocimiento de su densidad en el aire, así como sus variaciones de acuerdo a los diferentes climas dados en

una determinada región geográfica y a las diferencias estacionales dentro de un mismo hábitat (71).

Otros alérgenos importantes son el polvo casero, presente en todos los ambientes (38); ácaros de diferentes géneros, sobre todo Dermatophagoides, siendo con mucho los alérgenos más importantes en nuestro ambiente (52); también son alérgenos la leche, el huevo, la caseína y algunas proteínas de la carne de res, cerdo y algunas aves (46), y partículas inertes como descamaciones epidérmicas, plumas y pelos de algunos animales, relacionándose este último grupo con aquellos individuos que trabajan con animales (granjeros, campesinos, veterinarios, trabajadores de bioterios, zoológicos, etc.) (41, 92).

Otro grupo de alérgenos, aunque se presenta con menor frecuencia, pero no por eso menos importante, es aquel que comprende a los compuestos químicos tales como insecticidas, detergentes, aromatizantes de ambiente, compuestos radioactivos, etc. (7, 8, 9). (Tabla II).

b) Características fundamentales de los hongos

Los hongos poseen características diferentes a otros organismos, destacando entre ellas:

- La unidad estructural es la hifa

TABLA II

AGENTES MAS FRECUENTEMENTE ENCONTRADOS COMO CAUSANTES DE
ALERGIAS RESPIRATORIAS

POLENES

Populus
Amaranthus
Artemisia
Atriplex
Capriola

Cosmos
Chenopodium
Quercus
Franseria
Fraxinus

Helianthus
Holcus
Ligustrum
Lolium
Plantago

Rumex
Salsola
Schinus

ACAROS

Dermatophagoides
Acarus siru

Pyemotes ventricosus
Glycyphaqus

HONGOS

Absidia
Alternaria
Aspergillus
Botrytis
Candida
Cephalosporium
Cladosporium
Curvularia
Chaetomium
Fusarium

Geotrichum
Gliocladium
Helminthosporium
Hormodendrum
Sclerotium
Monilia
Mucor
Nigrospora
Paecilomyces
Penicillium

Phialophora
Phoma
Pullularia
(Aureobasidium)
Rhizopus
Rhodotorula
Sepedonium
Scopulariopsis
Stemphyllium
Syncephalastrum

Torula
Trichoderma
Trichotecium
Verticillium

ALIMENTOS

Leche
Caseina

Huevo
Trigo

Chocolate
Carne

OTROS ALERGENOS

Polvo casero
Plumas

Pelos de gato
Pelos de perro

Pelos de conejo
y de otros roe-
dores

Algodón
Pochote

- Se reproducen por esporas o por conidios
- Son heterótrofos
- El componente principal de su pared es la quitina

Una hifa es un filamento tubular, delgado, generalmente tabicado, con una pared celular definida compuesta de quitina y -
 carbohidratos muy complejos. Pueden tener uno o más poros septales, así que el citoplasma puede fluir a través de todo lo largo de la hifa. No todos los hongos producen hifas, pues existen -
 los que se dividen por gemación (levaduras) y aquellos que presentan otros tipos de estructuras (células con rizoides, por -
 ejemplo). Otros pueden o no formar hifas, según las características del ambiente en que se desarrollen.

Fundamentalmente, la célula reproductiva es un pequeño componente de un organismo muy complejo, compuesto por múltiples -
 unidades, que contiene los componentes celulares esenciales, ya que en esta célula se encuentra el núcleo, rodeado de una membrana, lo que la hace la unidad fundamental para la reproducción -
 del hongo. (19, 37, 74, 90).

c) Naturaleza de los hongos anemófilos

Los hongos son un grupo de organismos eucarióticos, formadores de esporas o conidios agrupados en un Reino propio llamado Fungi (98, 99). Originalmente se les clasificó como un grupo de

plantas carente de tallos, hojas y raíces. Posteriormente fueron clasificados dentro de la clase Talophyta, junto con los líquenes y las algas. Sin embargo, los hongos difieren de otros grupos por su falta de clorofila, dependen de una fuente externa para su nutrición y existen tanto como saprobios que como parásitos (6, 74, 84, 91).

Existen aproximadamente 200 000 especies descritas de hongos, tanto filamentosos como levaduras, con varias especies aún sin describir (37, 102). Las levaduras, son células sencillas que se reproducen asexualmente por gemación, aunque algunas de ellas son capaces de reproducirse también por reproducción sexual formando ascosporas y basidiosporas. Los hongos filamentosos están constituidos por hifas tubulares que pueden ser septadas o no, que contienen compartimientos individuales de células; pueden carecer de paredes transversales en cuyo caso se presentan como un tubo continuo con sus núcleos flotando libremente dentro del citoplasma. Colectivamente, todas las hifas de un mismo organismo reciben el nombre de micelio.

En relación a los hongos anemófilos, se sabe que existen como organismos de vida libre, ubicuos en la naturaleza, abundantes en el suelo, agua y aire, y generalmente asociados a ciertas condiciones geográficas o climatológicas, ya que son capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de ambientes en los cuales existan suficiente humedad y una temperatura adecuada, ya sea en

el suelo, el agua o materiales orgánicos que provean a los hongos de nutrientes adecuados para su reproducción (13).

De acuerdo a esto, todos los hongos anemófilos, ya sea en interiores o a la intemperie, existen con su gran variedad de géneros, produciendo gran cantidad de esporas aéreas o bien porciones pequeñas de micelios, que se diseminan abundantemente (58) y que su concentración en el aire es muy variable, pues, en épocas de abundante precipitación pluvial, o bajas temperaturas, puede reducirse considerablemente; sin embargo, nunca llegan a desaparecer del todo. Estas partículas fúngicas seguramente contienen en sus paredes o porciones más externas determinadas sustancias o componentes que les confieren propiedades antigénicas capaces de provocar una respuesta de hipersensibilidad en individuos susceptibles, estando involucrados en este fenómeno factores tales como:

- cantidad de partículas en el aire
- hora del día
- estación
- clima
- ambiente circundante

(30, 37, 42, 71, 78)

La clasificación de los hongos ha presentado siempre innumerables dificultades, sin embargo, siempre se ha presentado la

necesidad de agrupar taxonómicamente a los microorganismos para facilitar su estudio. La clasificación de los hongos que más se ha utilizado, se ha basado en características taxonómicas, bioquímicas y fisiológicas; sin embargo, no se le puede considerar como definitiva, pues el estudio constante de dichas características, arroja nuevos conocimientos que provocan la proposición de nuevas clasificaciones. Esta clasificación es la siguiente:

REINO: FUNGI

DIVISIONES: EUMYCOTA

MYXOMYCOTA *

SUBDIVISIONES: MASTIGOMYCOTINA

CLASES: Chytridiomycetes
Hyphochytriomycetes
Plasmodisporomycetes
Oomycetes

SUBDIVISION: ZYGOMYCOTINA

CLASE: Zygomycetes

ORDEN: Mucorales

FAMILIA: Mucoraceae

GENEROS: Mucor

Rhizopus

Entomophthorales

Entomophthraceae

Basidiobolus

Entomophthora

SUBDIVISION: DEUTEROMYCOTINA

CLASE: Blastomycetes

ORDEN: Cryptococcales

FAMILIA: Cryptocaccaceae

GENEROS: Candida

Cryptococcus

Rhodotorula

CLASE: Hyphomycetes

ORDEN: Moniliales

FAMILIA: Moniliaceae

GENEROS: Aspergillus

Epidermophyton

Geotrichum

Gliocladium

Histoplasma

Microsporium

Monilia

Oidium

Penicillium

Trichophyton

Verticillium

FAMILIA: Dematiaceae

GENEROS: Alternaria

Cladosporium

Curvularia

Helminthosporium

FAMILIA: Tuberculariaceae

GENERO: Fusarium

CLASE: Coelomycetes

ORDEN: Sphaeropsidales

FAMILIA: Sphaeropsidaceae

GENERO: Phoma

SUBDIVISION: ASCOMYCOTINA

SUBDIVISION: BASIDIOMYCOTINA

NOTA: Dentro de la clasificación aquí enunciada, solamente se incluyeron aquellas CLASES, ORDENES, FAMILIAS Y GENEROS, que son capaces de provocar patologías en el hombre, ya sea desde el punto de vista de micosis, o bien de alergias. Los restantes, no se consideran de importancia en alergia.

* La división MYXOMYCOTINA no se detalla, ya que dentro de ella no existe ninguna clase que contenga hongos de importancia médica de ninguna especie.

d) Géneros más frecuentes

Aún cuando todos los hongos que se encuentran en la naturaleza, son potencialmente alérgenos, existen algunos géneros que con mayor frecuencia van a causar alergia. Estos son:

<u>Absidia</u>	<u>Geotrichum</u>	<u>Phialophora</u>	<u>Torula</u>
<u>Alternaria</u>	<u>Gliocladium</u>	<u>Phoma</u>	<u>Trichoderma</u>
<u>Aspergillus</u>	<u>Helminthosporium</u>	<u>Pullularia</u>	<u>Trichotecium</u>
<u>Botrytis</u>	<u>Hormodendrum</u>	<u>(Aureobasidium)</u>	<u>Verticillium</u>
<u>Candida</u>	<u>Sclerotium</u>	<u>Rhizopus</u>	
<u>Cephalosporium</u>	<u>Monilia</u>	<u>Rhodotorula</u>	
<u>Cladosporium</u>	<u>Mucor</u>	<u>Sepedonium</u>	
<u>Curvularia</u>	<u>Nigrospora</u>	<u>Scopulariosis</u>	
<u>Chaetomium</u>	<u>Paecilomyces</u>	<u>Stemphyllium</u>	
<u>Fusarium</u>	<u>Penicillium</u>	<u>Syncephalastrum</u>	

Existen miles de géneros reconocidos, encontrados en el suelo, agua, vegetales y aún en hombres y animales. De estos hongos capaces de causar alergias, la mayoría se encuentran dentro de la subdivisión DEUTEROMYCOTINA, aún cuando también encontramos que algunos géneros de la subdivisión ZYGOMYCOTINA, tales como Rhizopus, Mucor y Absidia, se encuentran como causantes de alergias.

Estos hongos causantes de alergias, presentan características muy diferentes a las de otros alérgenos. La partícula que se inhala consiste en una célula viva completa, siendo más frecuente aspirar la célula conidial que fragmentos de micelio, por otro lado, la mayoría de los géneros de hongos anemófilos comprenden una gran cantidad de especies, subespecies y variedades-

de cepas que dificultan su estudio e identificación, además se encuentran relaciones antigénicas entre varios géneros, lo que dificulta aún más su caracterización. De los muchos géneros de hongos anemófilos, muy pocos se han estudiado a fondo, en cuanto al contenido alergénico, principalmente Alternaria, Cladosporium, Aspergillus, Monilia, Helminthosporium y Candida. (101)

Los progresos en el aislamiento y caracterización de los antígenos fúngicos han sido muy lentos debido a que hay una microheterogeneidad en dichas moléculas. Los avances han dado esperanzas aunque los conocimientos en el campo de la naturaleza molecular de estos componentes son relativamente pequeños.

c) Contacto de las partículas productoras de alergias con la mucosa respiratoria

Una vez que han penetrado a las vías respiratorias, el depósito de los conidios depende de las condiciones anatómicas del individuo y de la velocidad del aire en un momento determinado, así como del tamaño, densidad y forma de dichos conidios. Los macroconidios penetran a través de la narinas, implantándose en las vibrizas, que constituyen la primera barrera mecánica que opone el hospedero como defensa a estas esporas.

Sin embargo, muchos conidios llegan a traspasar esta barrera y penetran a la cavidad del aparato respiratorio, encontrando

la segunda barrera, que en este caso es el moco nasofaríngeo, el que eficientemente remueve las partículas y las lleva hacia la faringe y de ahí al esófago y estómago siendo finalmente eliminadas del organismo, por vía digestiva. Cuando el organismo no logra eliminar a las esporas, sobrevienen los síntomas de alergia-respiratoria (4, 12, 17, 75, 81, 97).

Los conidios pequeños, al alcanzar el árbol respiratorio, son depositados principalmente por sedimentación durante la inhalación. Como las paredes de los sacos alveolares no contienen cilios, estos conidios son eliminados por los fagocitos alveolares, aunque algunos permanecen en los alvéolos por largo tiempo, pudiendo germinar y multiplicarse.

Lacey (58), en sus estudios sobre la presencia de esporas en el ambiente, puntualizó que aquellas asociadas a una respuesta de hipersensibilidad inmediata usualmente medían más de 5 μ . Las que se asociaban a reacciones de hipersensibilidad retardada eran considerablemente más pequeñas, por lo que penetraban más profundamente en el árbol bronquial, mientras que las de mayor tamaño, quedaban atrapadas en las vías respiratorias altas.

Para que un conidio sobreviva, requiere de la presencia de humedad en el ambiente, factor que influye de manera relativamente importante en la selección del substrato por el conidio, sobre todos aquellos que provocan alergias.

La temperatura también es un factor importante en relación al crecimiento de los hongos, los cuales son capaces de desarrollarse en temperaturas de muy variados rangos, que van desde -2°C hasta 55°C, aunque la mayoría crecen a una temperatura de 24 a 37°C. Esto explica la gran cantidad de hongos encontrados en los más variados climas del mundo (13).

B) FACTORES DE ALERGIAS RESPIRATORIAS EN POBLACION PEDIATRICA

- a) Factores genéticos y hereditarios
- b) Factores inmunológicos
- c) Factores ambientales

La respuesta alérgica tiene el mismo proceso de reconocimiento del antígeno y los mismos mecanismos efectores humorales y celulares que la respuesta inmunológica a otros estímulos; sin embargo, en la alergia, los síntomas se presentan como consecuencia de una reacción inflamatoria desencadenada contra antígenos ambientales, los que generalmente no son intrínsecamente nocivos.

En la edad pediátrica, es muy frecuente encontrar enfermedades respiratorias de tipo alérgico, ya que los niños se encuentran más expuestos a las partículas existentes en el ambiente, además de ser una población no desensibilizada y por tanto capaz de desarrollar alergias en cualquier momento, las que en su mayoría desaparecen espontáneamente al llegar la adolescencia

(16, 73, 81, 85).

Otro tipo de poblaciones susceptibles son las que se encuentran excesivamente expuestas a diferentes tipos de alérgenos relacionados con las condiciones climáticas o bien, con la ocupación del individuo, la que en ocasiones es fundamental para la presencia de patologías respiratorias y que en casos extremos puede incapacitar definitivamente al paciente (44).

En los enfermos con infecciones crónicas o repetidas del aparato respiratorio, se observan a menudo alergias respiratorias, probablemente porque el reflejo nasobronquial facilita la reacción a los alérgenos, tanto que el paciente con rinitis, hiperreacciona a cualquier estímulo, probablemente por trastornos en la función mucociliar de la nariz.

Sin embargo, no todos los individuos que respiran partículas ambientales presentan síntomas de alergia, solamente aquellos que son susceptibles, radicando esta susceptibilidad en varios aspectos, entre los que se pueden considerar:

- 1) Factores genéticos y hereditarios
- 2) Factores inmunológicos
- 3) Factores ambientales

- 1) Factores genéticos y hereditarios

El término "atopia", que significa extraño o raro, fue introducido por Coca y Cooke en 1923 (29) para designar aquellas alergias que se consideraban como familiares o hereditarias. Existen pruebas de que se encuentran enfermedades tales como el asma, rinitis, fiebre del heno y dermatitis atópica en ciertos núcleos familiares, lo que ha llevado a los alérgicos a estudiar la importancia de los factores hereditarios en la causa de estas enfermedades, siendo la atopia un común denominador para todos ellos. (69).

Actualmente el término "atopia" se define como una condición del individuo que lo lleva a desarrollar una respuesta de hipersensibilidad contra antígenos ambientales, que sólo se presenta en aquellos pacientes que cuentan con una historia familiar de enfermedades alérgicas de diversas índoles y que producen cantidades excesivas de anticuerpos del tipo IgE, específicamente contra estos antígenos, aunque una persona no atópica puede también desarrollar una alergia en cualquier momento si la exposición al alérgico es muy prolongada y/o intensa. (28).

Por otro lado, el riesgo de desarrollar alergias en los niños predispuestos genéticamente, puede reducirse cuando a la mujer embarazada y al mismo niño, después de su nacimiento, se les alimenta con una dieta exenta de sustancias con un elevado potencial de sensibilización. Esto ha sido comprobado por Matthew (70), quien demostró la existencia reducida de dermatitis atópi-

ca en lactantes sometidos a un régimen antialérgico, evitando la exposición a los ambientes con un elevado potencial de sensibilización (40, 61, 62, 63).

2) Factores inmunológicos

Además de los factores hereditarios que intervienen en el proceso alérgico, se encuentran los factores locales, que corresponden básicamente a factores del hospedero. Hasta el momento no se puede explicar el por qué un individuo desarrolla una alergia a un alérgeno determinado en un momento dado, pero la penetración del alérgeno a las superficies mucosas y su contacto, desencadena una serie de fenómenos que provocan la activación de ciertas células del sistema inmune, que van a estimular a su vez a los linfocitos B, produciendo anticuerpos secretorios (IgA) que quizá sean importantes en la eliminación superficial de los alérgenos. (64).

Soothill (90) sugiere que una anomalía fundamental en los individuos atópicos es una deficiencia de IgA secretoria, lo cual impide que los alérgenos sean eliminados adecuadamente, por lo que permanecerían en el epitelio el suficiente tiempo para estimular la liberación de IgE en exceso; sin embargo, se ha probado que los pacientes alérgicos presentan una cantidad normal de IgA, por lo que esta hipótesis no es concluyente. Otro factor que se ha mencionado es un aumento en la permeabilidad epi -

dérmica. Aunque también faltan evidencias definitivas, puede ser que este factor contribuya a una posterior sensibilización. Así pues, una serie de observaciones realizadas, sugieren que los factores locales de la membrana mucosa pueden ser de importancia en el desarrollo de la patología alérgica de las vías aéreas. No sólo intervienen los factores humorales, sino también existe una importante estimulación de linfocitos T, los cuales intervienen como reguladores de la formación de IgE por las células plasmáticas. Aparentemente, en la condición de atopía, la función reguladora de la célula T se encuentra deficiente, siendo esto importante en el desencadenamiento de las alergias y en la producción excesiva de IgE (75).

Existen también otros factores que son liberados por células del sistema inmune llamados mediadores químicos y que constituyen el sistema mediador y regulador de la respuesta alérgica tipo I. La formación de IgE estimula la liberación de estos mediadores por los mastocitos, y por los basófilos, los que son:

Primarios: histamina, substancia de anafilaxia de reacción lenta, factor quimiotáctico de los eosinófilos y factor de activación de las plaquetas.

Secundarios: Prostaglandinas, serotonina y cininas.

Intracelulares: Nucleótidos cíclicos: Adenosin - monofosfato cf

clico y guanosin - monofosfato cíclico.

Los pacientes con rinitis pertinaz y con asma, presentan reacciones anormales en sus mucosas cuando éstas entran en contacto con los mediadores; esto supuestamente se debe a una anomalía en los mediadores intracelulares, que contribuye grandemente a la aparición de los síntomas de alergia. También se sugiere una cinética anormal del mastocito, que se presenta solamente en los pacientes atópicos (75).

Se conoce poco acerca de este movimiento mastocitario, pero sería otro factor que explicaría, por lo menos en parte, la diferencia entre un individuo atópico y uno normal.

3) Factores ambientales

Como es bien sabido, los hongos crecen en cualquier ambiente en donde existan humedad y temperatura adecuadas. Algunos géneros se encuentran con mayor abundancia en determinadas épocas del año, siendo la primavera y el verano las estaciones en las que se aislan mayores cantidades; pero estas condiciones pueden ser muy variables, y la mayor proliferación de hongos, siempre tiende a coincidir con la mayor frecuencia de aparición de pólenes, por lo que no es extraño encontrar en un mismo paciente alergias simultáneas a ambos agentes.

Entre los factores climáticos que afectan la presencia de hongos en el ambiente, se encuentran:

- Presión barométrica
- Humedad relativa
- Temperatura
- Vientos
- Lluvias
- Niebla
- Inversiones térmicas
- Contaminación ambiental

Otros factores que pueden afectar la microbiota ambiental, sobre todo en interiores son:

- Aparatos de aire acondicionado
- Plantas de ornato
- Sistemas de calefacción
- Cuartos en donde exista exceso de humedad

Las esporas de hongos siempre están presentes en el aire y el viento provoca una importante diseminación de ellas en cualquier ambiente ecológico, aunque es cierto que durante el verano y los meses de la estación húmeda, su cantidad asciende, así como disminuye durante los meses de invierno (79). Hay ciertos géneros que aumentan sus montos de esporas a cierta hora del día o

de la noche, dependiendo de las condiciones climáticas del lugar. Este ascenso o descenso de las esporas es conocido como "patrón de ritmo diario". Por razones desconocidas, ciertos hongos muestran ciertos patrones diarios a determinadas horas y otros no presentan ningún patrón. Esto parece ser determinado por todos los factores ambientales antes mencionados (15).

C) **DIAGNOSTICO DE ALERGIAS RESPIRATORIAS POR HONGOS AMBIENTALES**

a) Características clínicas:

- 1) rinitis
- 2) conjuntivitis
- 3) bronquitis
- 4) asma
- 5) complicaciones

La hipersensibilidad dada a la inhalación de aeroalergenos se manifiesta de muchas maneras. En ciertos individuos atópicos, esta hipersensibilidad se presenta como asma bronquial y los alergenos son usualmente esporas de hongos, pólenes, polvo, etc. en el aire o en el suelo. Esta hipersensibilidad puede desarrollarse también en individuos no atópicos que están continuamente expuestos a estos alergenos.

Como puede verse, las reacciones de hipersensibilidad juegan un papel sumamente importante en la presencia de los síntomas, existiendo diversas variantes, de acuerdo a la respuesta del individuo. Es importante mencionar que no se encuentra una sola entidad como manifestación de la alergia, sino que sobre todo en niños, se encuentra un elevado porcentaje de asociaciones de estas manifestaciones. Por ejemplo, asma bronquial con rinitis, asma bronquial con manifestaciones cutáneas, etc. (93).

Las características clínicas de la alergia por hongos en los seres humanos varía mucho, desde las clásicas manifestaciones atópicas, hasta aquellas donde hay una severa invasión del epitelio respiratorio por el hongo, tales como la aspergilosis broncopulmonar. En la Tabla III se muestran las manifestaciones clínicas de alergia. Es importante buscar alguna infección aguda o alguna otra patología que pueda confundir en cuadro alérgico o que pueda en un momento dado agravar dicho cuadro (75).

La persona alérgica se caracteriza clínicamente por el hecho de que algún aspecto de la respuesta de las células reactivas al contacto con un alérgeno, da lugar a la producción de síntomas. La elevada reactividad de la persona alérgica se refleja también en la alteración local o sistémica de los órganos diferentes a aquéllos donde reside el síntoma principal. Por ejemplo, la piel puede también reaccionar a los alérgenos que provocan síntomas respiratorios al ser inhalados (100).

TABLA III
 MANIFESTACIONES CLINICAS DE LAS ALERGIAS
 RESPIRATORIAS
 POR HONGOS

FORMA CLINICA	MANIFESTACIONES
RINITIS	Puede ser perenne o intermitente.- Se presenta obstrucción nasal, eritema nasal con descargas ocasionales y estornudos en episodios. Hay accesos de tos, lagrimeo y prurito nasal intenso. Estos síntomas pueden presentarse con mayor intensidad durante la noche. (17, 56)
BRONQUITIS	Se presenta cuando hay irritación bronquial en ausencia de asma bronquial. Puede presentarse en cualquier variedad de alergia respiratoria y coexistir con rinitis. Hay obstrucciones en el reflujo del aire, semejante a un cuadro asmático, puede haber broncoespasmo cuando haya una ligera disminución de O ₂ sin cambios necesarios en la capacidad vital. (5)
ASMA	Puede presentarse aún cuando no haya exposición directa al alérgeno. Las manifestaciones son: sibilancias con síntomas nasales agregados, seguidos de accesos de tos, cuya severidad se incrementa gradualmente, así como su frecuencia. No hay fiebre, a menos que exista una infección agregada. Las sibilancias pueden continuar por horas o días. Histológicamente, ocurren cambios bronquiales muy lentos que son difíciles de evaluar clínicamente, pero que sí afectan la función pulmonar y predisponen a la adquisición de infecciones agregadas. (22, 26, 42, 43, 86, 94)

NEUMOMITIS POR
HIPERSENSIBILIDAD

Se diferencia del asma porque los síntomas solamente se presentan durante 4 ó 5 horas inmediatas a la exposición al alérgeno. Hay además malestar general y fiebre, seguida de cuadros de disnea de pequeños esfuerzos. (5)

COMPLICACIONES

Pueden presentarse secundariamente a la inhalación constante de los hongos alérgenos. Aunque no son frecuentes y aparentemente no están relacionadas con los mecanismos inmunológicos que siguen las alergias, es importante mencionar la aspergilosis broncopulmonar, fungomas pulmonares, micetomas, endocarditis e infecciones oculares o paranasales que llegan a destruir los tejidos, como las más importantes. (59, 72)

b) METODOS AUXILIARES DE DIAGNOSTICO

- 1) Pruebas cutáneas
- 2) Pruebas serológicas

1) Pruebas cutáneas:

Las pruebas cutáneas fueron introducidas por Fineman en - 1926, para estudiar el grado de hipersensibilidad en un paciente con fiebre del heno (44). Desde entonces, son empleadas para la determinación de hipersensibilidad cutánea inmediata en pacientes con enfermedad atópica. La piel reacciona al alérgeno, que es introducido en ella, debido a la liberación de histamina por las células cebadas, provocando eritema, aumento en la permeabilidad vascular y prurito.

Muchos alérgenos pueden ser probados al mismo tiempo, usando una combinación de métodos cutáneos e intracutáneos, y cada serie de pruebas deberá incluir el diluyente como testigo. En algunas ocasiones se usa la histamina como testigo positivo.

Existen dos métodos de pruebas cutáneas: las pruebas por escarificación y las pruebas por picadura. Ambas se aplican en la espalda o en la cara interna de los antebrazos y los resultados se miden por su intensidad en cruces: NEG., 1+, 2+, 3+, etc.

Las pruebas por escarificación son llevadas al cabo haciendo

do un arañazo lineal en la piel, sobre el cual se aplica el alergeno, cuando este método de resultados negativos o muy leves (1+), deben efectuarse pruebas por el método de la picadura, que consiste en la introducción del alergeno intracutáneamente.

Los alergenos a probar se determinan por los antecedentes y la historia clínica del enfermo. La intensidad de la reacción es influida por numerosos factores no directamente relacionados con los síntomas, como la potencia de los extractos y la reactividad de la piel, por lo tanto, el tamaño de la respuesta no puede ser indicador de cuan alergico se encuentra el paciente a un alergeno en particular, aunque debe tomarse en cuenta para evaluación del tratamiento.

Las pruebas cutáneas resultan convenientes, prácticas y confiables y la experiencia ha demostrado que son útiles para el diagnóstico en la mayoría de los pacientes sospechosos de ser alergicos, si se tiene cuidado de correlacionar la historia clínica con otras manifestaciones clínicas compatibles.

2) Pruebas serológicas:

Los niveles de inmunoglobulinas séricas dependen de una gran diversidad de factores: genéticos, ambientales y de desarrollo, incluyendo:

- raza
- edad
- sexo
- antecedentes heredo-familiares
- variaciones fisiológicas normales
- factores geográficos

La edad del paciente es especialmente importante para la interpretación de los niveles de inmunoglobulinas, pues los lactantes nacen prácticamente sin inmunoglobulinas propias, las que se van sintetizando poco a poco, conforme el niño crece y se desarrolla hasta llegar a la adolescencia, que es cuando se encuentran niveles significativos de IgG, IgA e IgM, muy cercanos a los encontrados en la edad adulta, siendo la IgE sumamente importante en procesos alérgicos (11, 22, 47, 55, 85, 100, 101).

Las principales pruebas para la detección de anticuerpos se basan en algunos fenómenos como la precipitación de sustancias extrañas, lo que indica que el anticuerpo es eficaz en la defensa contra la agresión. Los resultados de tales pruebas se expresan en cantidades que indican el índice de dilución, llamadas títulos, los cuales se refieren a la expresión de la actividad de los anticuerpos contenidos en el suero. Cuando se encuentran en cantidades suficientes para combinarse con el antígeno, se presentan las reacciones de precipitación.

La precipitación que resulta de la combinación antígeno-anticuerpo, ocurre también en bases semisólidas, como lo es el agar para difusión (32). Las reacciones inducidas en este medio son muy útiles en el análisis de antígenos múltiples.

- Inmunodifusión.

La técnica de inmunodifusión o doble difusión en agar, también llamada de Ouchterlony (75), permite un análisis más satisfactorio de las uniones antígeno-anticuerpo. En esta prueba se colocan por separado el antígeno y el suero conteniendo los anticuerpos, en pequeñas horadaciones dispuestas para tal fin en una capa de agar colocada en una lámina, de modo que el anticuerpo y el antígeno difundan uno hacia el otro, para formar una banda de precipitación en el sitio donde ambos reactivos estén presentes en las proporciones adecuadas para que se lleve a cabo su precipitación.

Si la concentración del antígeno es mayor que la del anticuerpo, la línea de precipitación se localizará cerca de la depresión en la que se colocó el anticuerpo. Si ambos reactivos tienen la misma concentración, la línea estará en el punto medio entre las horadaciones en que fueron colocadas y, finalmente, si la concentración del anticuerpo es mayor, la línea mencionada se localizará cerca del antígeno. En el caso de que estén presentes diversos sistemas antígeno-anticuerpo, suelen observarse lí-

neas separadas para cada sistema. Los patrones que muestran las líneas de precipitación, cuando se comparan dos o más antígenos- empleando un solo suero, o viceversa, se usan con frecuencia pa- ra identificar una preparación de antígeno o anticuerpo.

D) MANEJO TERAPEUTICO INESPECIFICO

- a) Inmunoterapia
- b) Fármacos: antihistamínicos-corticosteroides

Las formas de tratamiento que más se han utilizado para - las alergias de tipo respiratorio, han sido: a) Inmunoterapia- y b) Fármacos encaminados a eliminar las molestias.

a) Inmunoterapia

La inmunoterapia consiste en la desensibilización del pa - ciente alérgico, por medio de repetidas inyecciones del alérgeno por vía subcutánea. Este tratamiento es efectivo siempre y cuan - do el diagnóstico sea correcto, se aplique una dosis suficiente - mente grande y durante un tiempo bastante prolongado para que el individuo se desensibilice adecuadamente y exista una verdadera - curación de la alergia (1, 24, 54, 76).

Sin embargo debe considerarse siempre la posibilidad de - eliminar el alérgeno antes de iniciar la inmunoterapia, ya que -

ésta es laboriosa, cara y conlleva un riesgo de aparición de -
efectos colaterales indeseables, además de estar limitada para -
aquellos pacientes que presenten alergia respiratoria del tipo -
I, pues la alergia alimentaria, no responde a este tratamiento.

Por otro lado, cada vez que se aplican sustancias alérgicas a un organismo, existe un riesgo de que aparezcan reacciones anafilácticas sistémicas que pueden causar hasta la muerte, por lo que hay que tomar precauciones rigurosas y seguir algunas reglas generales como son:

- 1) Aplicar las inyecciones a intervalos regulares de tiempo.
- 2) Mantener al paciente en observación por lo menos durante 20 minutos después de la aplicación de la inyección.
- 3) Tener al alcance de la mano una solución de adrenalina para inyección.
- 4) Observar si existe desarrollo de reacciones locales o generales, más o menos severas, debiéndose disminuir la próxima dosis de alérgenos.
- 5) Tomar en consideración la adherencia de las proteínas al vidrio de los recipientes que contengan el antígeno,

pues no se deben tomar frascos que se encuentren con -
muy poca cantidad de antígeno, ya que su potencia dis-
minuirá considerablemente.

- 6) Recomendar al paciente que no haga ejercicio físico du-
rante unas horas después de la inyección del antígeno.

Aunque esta terapéutica resulta eficaz, en ocasiones no es
posible predecir el resultado para un paciente en particular, -
considerando la totalidad de los enfermos, se observa mejoría en
los síntomas en un 50%. Aún no se ha determinado la eficacia de
la inmunoterapia a largo plazo.

b) Fármacos encaminados a eliminar las molestias

- 1) Antihistamínicos
- 2) Vasoconstrictores intranasales

1) Los antihistamínicos son eficaces en el tratamiento de
las alergias del tipo I y poseen además actividad anticolinérgi-
ca. Los efectos secundarios que presentan a dosis terapéuticas-
generalmente no son de gravedad pero en ocasiones pueden preci-
zar la suspensión del tratamiento y aún cuando los preparados -
combinados de antihistamínicos y descongestionantes resultan úti-
les, éstos últimos simulan el efecto sedante de los antihistamí-
nicos, llevando igualmente a la necesidad de suspender el trata-
miento (10).

2) Las gotas vasoconstrictoras intranasales están indicadas tanto para alergias respiratorias, como para infecciones, - siendo más útiles en esta patología, pues en pacientes alérgicos debe restringirse su uso, pues generalmente se cae en el abuso, - provocándose la constricción tanto de los sinusoides como de las arteriolas, lo que hace que aparezca primero una anemia y luego una hiperemia secundaria por efecto de rebote, la cual puede causar obstrucción, irritación local y disminución en la capacidad de respuesta alfa adrenérgica. Esto provoca un aumento en la dosis de administración por parte de los pacientes, lo que puede - acabar provocando una rinitis medicamentosa, la que dará por resultado final una dependencia de los fármacos nasales, lo que - provocará más síntomas que la propia enfermedad (50).

Los efectos colaterales se evitan administrando el medicamento durante un tiempo limitado, y cuando se requiera el uso de vasoconstrictores, deberán utilizarse drogas muy potentes para - evitar el uso prolongado de los medicamentos.

Existen otros tipos de medicamentos, los cuales actúan a - nivel celular, por medio de la estabilización de los mastocitos - y el bloqueo de la liberación de mediadores inducido por el aler - geno. Cuando estos medicamentos se aplican tópicamente antes de la exposición al alérgeno, inhiben los síntomas inmediatos. Es - tos medicamentos son eficaces en el tratamiento de la fiebre del heno y de la rinitis pertinaz alérgica, quizá la eficacia clínica

de esta terapéutica no es tan buena como cabría esperar, además, no se ha establecido la trascendencia clínica de estos hechos - (76).

Los corticosteroides presentan un efecto multifactorial sobre el sistema inmune, el cual es generalmente de tipo supresor y no está perfectamente esclarecido. Son eficaces cuando la secreción de las vías aéreas se caracteriza por presentar eosinofilia, pero tienen escaso efecto en las reacciones tipo I. Los esteroides sistémicos pueden estar indicados en pacientes alérgicos que no hayan respondido a la terapéutica local. En los casos en que la exposición a los alérgenos no es muy intensa pueden administrarse por vía oral, sólo en casos pertinaces o exposiciones muy prolongadas es conveniente utilizar la vía parenteral, permitiendo que exista una dosis de depósito que será un valioso suplemento para el tratamiento local, y en los casos graves, será posible conservar un monto conveniente que puede perdurar durante uno o más años (50).

II. ANTECEDENTES HISTORICOS

Los primeros reportes que se conocen relativos a las reacciones de tipo alérgico, son aquellos en los que se menciona lo que sucedía a ciertos individuos que al ingerir determinados alimentos o al entrar en contacto con alguna sustancia "extraña", - presentaban alteraciones en su bienestar. Aunque en aquel tiempo no se reconocía a estas alteraciones como reacciones alérgicas, sí se consideraba que algo sucedía en la homeostasis de estos sujetos, ya que podía tener un desenlace fatal, si esta alteración era muy severa.

Un buen ejemplo de esta situación lo constituye el caso de Bostock, que en 1819 (73), describió su propio padecimiento como "catarro de verano" ya que sólo se presentaba en la época del año que correspondía a la estación veraniega. Nueve años después, él mismo rebautizó su enfermedad como "fiebre del heno", - porque pensó que estaba relacionada con la exposición a cierto tipo de heno, que recientemente había sido llevado a su granero. En 1873, Blackeley demostró que la "fiebre del heno de Bostock", estaba causada por la inhalación de ciertos pólenes (20).

El término "alergia", que sirvió para definir cuadros de alteraciones muy diversas, fue introducido por Von Pirquet en 1906, y lo utilizó para designar cualquier reacción en los humanos o en los animales, debida a la introducción de alguna subs -

tancia ajena al organismo del hospedero, ya fuera un agente biológico o cualquier fármaco usado para el tratamiento de diversas enfermedades.

La primera evidencia que se presentó en relación al papel de los hongos como productores de alergias respiratorias, se encontró en Europa en 1726 (45), cuando Sir John Floyer notó que un individuo que recientemente había visitado una bodega de vinos, muy húmeda, desarrolló un ataque violento de asma. Blackeley, al mismo tiempo que demostraba el papel de los pólenes en las alergias respiratorias, demostraba también que la asociación de algunas especies de hongos de los géneros Chaetonium y Penicillium, se relacionaban con severos ataques de "catarro bronquial". Van Leewen en 1924 (95), también hizo notar en sus estudios que existía una relación directa entre las variaciones climáticas y la presencia de ataques asmáticos, en la población que de alguna manera estaba expuesta a la inhalación de esporas fúngicas, y en ese mismo año, se reportó el primer caso de bronquitis asmática en el que se comprobó que un hongo parásito del trigo era el responsable de la enfermedad (26).

En 1924, Bernton y cols. (17) demostraron la importancia de los hongos ambientales como agentes responsables de algunos casos de rinitis vasomotora. En 1936, Brown efectuó pruebas precipitando un ataque de asma en un paciente susceptible, al hacerle inhalar esporas de diferentes hongos anemófilos (80). Estas-

pruebas fueron basadas en los reportes hechos por Feimberg y Prince un año antes (42, 80) en los que se demostró la importancia de los hongos y los pólenes en fenómenos alérgicos respiratorios.

Little y Feimberg, por esa misma época (42, 43) enriquecieron las evidencias presentadas por sus colegas, al encontrar en sus observaciones que existía una gran cantidad de esporas de hongos en la láminas preparadas para identificación de pólenes. De igual forma, notaron que los ataques de alergias respiratorias aparecían cuando las cuentas de pólenes eran bajas, pero en contraban grandes montos de esporas de hongos y sugirieron que éstas eran las responsables de las alergias (18, 30, 49, 95).

Con el advenimiento de las pruebas cutáneas, se dio un paso adelante en el conocimiento de las causas principales de alergias. Este método rige hasta nuestros días, para detectar la hipersensibilidad de los pacientes y ha sido muy útil también en los procedimientos terapéuticos para los diferentes tipos de alergias clínicas (4, 22, 36, 83).

En diferentes partes de nuestro país, se han efectuado estudios encaminados en su mayoría a la identificación de la microbiota ambiental, los que han sido de suma importancia, ya que han sentado las bases para la identificación de aquellos hongos que con mayor frecuencia causan alergias en nuestro ambiente, so

bre todo en poblaciones pediátricas que parecen ser las más -
susceptibles de presentar estos problemas.

Los primeros trabajos que se encuentran a este respecto -
son los de González-Ochoa (48), quien en 1943 efectuó un estudio
muy completo, con el que demostró que aquellos hongos que se en-
cuentran en el aire de la Ciudad de México, están íntimamente re-
lacionados con la presencia de fenómenos alérgicos y que a su -
vez, existen relaciones muy importantes con los factores atmosféricos,
lo que repercute de manera fundamental en la presencia de
alergias respiratorias a los diferentes géneros de estos hongos.

A partir de los trabajos de González-Ochoa, numerosos in-
vestigadores han efectuado estudios semejantes, que confirman -
los resultados obtenidos anteriormente, no sólo en México, sino-
en todo el mundo.

Un trabajo importante para los estudios de hongos causan-
tes de alergia, es la recopilación bibliográfica efectuada por -
Coutiño en 1979 (31), en la que se destaca la importancia de los
hongos en las alergias de tipo asmático en México y que sienta -
una vez más, bases para investigaciones a este respecto. Ante -
riormente a la revisión de Coutiño, se habían efectuado otros es-
tudios relacionados también con la identificación de la micobio-
ta de México en diferentes áreas geográficas y tanto en sitios -
abiertos como cerrados, los cuales se detallan en la Tabla IV -
(14, 15, 20, 31, 33, 34, 35, 48, 65, 66, 89).

TABLA IV
 ANTECEDENTES HISTORICOS DE LOS ESTUDIOS REFERENTES A LOS
 HONGOS CAUSANTES DE ALERGIAS

Autor (es)	Año	Hallazgos
Floyer	1726	Observa ataques asmáticos en un individuo que visitaba una bodega de vinos con abundante humedad.
Bostock	1819	Describe su propio padecimiento como "catarro de verano".
	1828	Rebautiza su enfermedad como "fiebre del heno".
Blackeley	1873	Demuestra que la "fiebre del heno" estaba causada por la inhalación de cierto tipo de pólenes.
Von Pirquet	1906	Introduce el término "Alergia", para definir los cuadros clínicos que se presentaban en casos de asma o alteraciones respiratorias al inhalar partículas ambientales.
Van Leeuwen	1924	Establece que las variaciones de los alergenos aéreos están íntimamente relacionadas con las variaciones climatológicas y comprueba la etiología fúngica en un caso de asma bronquial.
Bernton y cols.	1924	Demuestran la importancia de los hongos ambientales en varios casos de rinitis vasomotoras.
Cadham	1924	Reporta un caso de asma dado por la inhalación de un hongo encontrado en los granos de trigo.

Tabla IV (cont.)

Autor (es)	Año	Hallazgos
Fineman	1926	Introduce las pruebas cutáneas para detectar hipersensibilidad en pacientes alérgicos.
Feimberg y Prince	1935	Demuestran la importancia de los hongos y los pólenes en la fiebre del heno.
Feimberg y Little		Apoyan y enriquecen las evidencias presentadas por sus antecesores.
González-Ochoa y cols.	1943	Efectúan estudios sobre la micobiota ambiental en la Ciudad de México y su relación con fenómenos asmáticos.
Blackaller	1955	Estudia los hongos atmosféricos en la región medio-occidental de la República Mexicana y su relación con la alergia.
Sotomayor	1959	Estudia los hongos del aire en la Ciudad de Hermosillo, Sonora.
Cueva	1960	Efectúa investigaciones sobre el asma bronquial en México y su etiología fúngica.
	1967	Efectúa un estudio semejante en la Ciudad de Zamora, Michoacán.
Coutiño	1979	Destaca la importancia de los hongos en las alergias de tipo respiratorio y su estudio en México.

Tabla IV (cont.)

Autor (es)	Año	Hallazgos
López-Martínez y García Maynez	1983	Aislan hongos productores de alergias en mercados públicos de la Ciudad de México.
López - Martínez y Cols.	1984	Aislan hongos atmosféricos en un medio hospitalario en la - Ciudad de México.
Baeza y cols.	1987	Estudian la relación entre - hongos anemófilos y asma/rini- tis en niños de la Ciudad de- Villahermosa, Tabasco.

III. OBJETIVOS

- a) Determinar los géneros más frecuentes de hongos causantes de alergias respiratorias en la población infantil de la Ciudad de México.
- b) Conocer la variación estacional a lo largo de un año, de estos hongos causantes de alergias.
- c) Demostrar la presencia de estos hongos en viviendas y calles de diversas zonas de la Ciudad, en donde existan los niños - alérgicos estudiados.
- d) Correlacionar las pruebas cutáneas positivas en los niños - alérgicos en los géneros de hongos anemófilos aislados en el ambiente que rodee a dichos niños alérgicos.
- e) Elaborar antígenos de los géneros de hongos más frecuentes - para ser utilizados en la detección de anticuerpos específicos en el suero de niños alérgicos, por medio de pruebas de inmunodifusión.

IV. MATERIAL Y METODO

- A) Estudios de frecuencia y variación estacional.

- B) Estudios de correlación entre alergias clínicas y aislamiento de los hongos causantes.
 - a) Estudio retrospectivo
 - b) Estudio prospectivo

- C) Elaboración de antígenos fúngicos

- A) Estudios de frecuencia y variación estacional

Un primer trabajo consistió en estudiar la variación estacional de hongos anemófilos en la zona sur de la Ciudad de México. Este se realizó durante 12 meses, comprendidos de noviembre de 1981 a octubre de 1982. Se abarcaron seis subzonas del sur de la Ciudad de México, las cuales fueron: San Jerónimo, Pedregal de Carrasco, Xochimilco, Coyoacán, San Angel y Tlalpan.

Los muestreos se hicieron en exteriores, siempre en los mismos sitios y a la misma hora (11:00 y 14:00 horas), utilizando la técnica tradicional de aislamiento consistente en exponer durante 10 minutos una caja de Petri con medio de Sabouraud simple. Cada una de las seis zonas fue muestreada seis veces durante

te el año, con intervalos de dos meses, para lo cual se utilizaron 18 cajas de Petri por toma y por zona, efectuándose 108 muestros por zona y un total de 648 para todo el estudio.

Las cajas fueron incubadas a 26°C durante 7 días, revisán dose cada tercer día, al cabo de los 7 días se efectuó la identificación macroscópica, señalando las características de las colonias, y microscópica, efectuando un examen directo teñido con azul de algodón. Se hizo también un conteo de las colonias que había en cada caja; las colonias de morfología desconocida se eliminaron. Las determinaciones taxonómicas de los hongos aislados se hicieron en base al estudio de la morfología microscópi ca y a sus características coloniales, solamente se llegó hasta género. Se tabularon los resultados correlacionando la frecuencia de géneros encontrados en cada una de las zonas muestreadas, así como su frecuencia mensual y variación estacional. A continuación se señalan las características coloniales y microscópi cas de los principales géneros que se considerarán en estudios posteriores, como los principales causantes de alergias.

MORFOLOGIA MACROSCOPICA

MORFOLOGIA MICROSCOPICA

GENERO: Aspergillus

Colonias vellosas, blancas al principio, en 2-3 días con un pigmento leve amarillo, verde, pardo o negro, dependiendo de la especie. El reverso puede ser blanco, amarillo o moreno. Tiene crecimiento rápido madurando en 3 a 5 días.

Hifas septadas, conidióforos que emergen de una célula basal especializada, alargada hasta su tope donde forma una vesícula redonda u ovalada. Esta vesícula está completa o parcialmente cubierta con fiálides en forma de botella, que producen cadenas de conidios redondas, en ocasiones rugosos. La implantación de las fiálides varía de acuerdo a la especie. (Figura 1)

GENERO: Alternaria

La colonia crece en 4 a 5 días. Su superficie es inicialmente blanca o gris, de aspecto vellosa. Posteriormente se torna de color verde pardo o café, con el borde

Micelio septado, generalmente de color oscuro, conidióforos septados de longitud variable. Los conidios son grandes, morenos, con septos transversales y longitudinales, que en ocasiones pro-

A. FUMIGATUS

PATOGENICIDAD:

ASPERGILOSIS CONTAMINANTE OPORTUNISTA

MORFOLOGIA MACROSCOPICA

COLONIAS ATERCIOPELADAS O PULVERULENTA, BLANQUECINAS Y LUEGO GRISACEAS

MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE LOS CONIDIOFOROS

CORTOS (<300 micras) LISOS

MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE LOS ESTERIGMAS

UNICOS, USUALMENTE SOLO LA MITAD SUPERIOR DE LA VESICULA, PARALELA AL EJE DEL ESTOLON



Figura 1(a)

A. NIGER

PATOGENICIDAD:

CONTAMINANTE OPORTUNISTA

MORFOLOGIA MACROSCOPICA

COLONIAS BLANQUECINAS O AMARILLENAS Y LUEGO CAFE A
NEGRAS

MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE LOS CONIDIOFOROS

LARGOS VARIABLE RUGOSOS

MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE LOS ESTERIGMAS

DOBLE CUBRE TODA LA VESICULA DEFORMADA RADIADA.



Figura 1(b)

claro. Puede cubrirse con hifas aéreas o cortas, de color gris. El reverso es negro.

ducen tubos germinales. Se encuentran formando cadenas o aislados, mostrando las cicatrices de unión en su extremo delgado. Son redondeados en su parte más cercana al conidióforo y el extremo opuesto es más alargado y fino. (Figura 2)

GENERO: Candida

Colonias de crecimiento rápido, cremosas, de superficie lisa y color blanco o marfil. Todas las especies presentan una morfología colonial muy semejante. Maduran en 2 a 3 días.

En el medio de Sabouraud simple, presentan células redondas, unigametas, agrupadas en racimos o bien aisladas pudiendo estar o no en gemación.

Para diferenciar la especie albicans se colocan en medio de harina de maíz, en donde presentan hifas septadas (pseudohifas), con clamidosporas terminales y acúmulos de blastosporas a lo largo de las pseudohifas. Otras especies generalmente no forman estas estructuras en el medio de harina de maíz. (Figura 3)

A. FLAVUS

PATOGENICIDAD:

CONTAMINANTE OPORTUNISTA

MORFOLOGIA MACROSCOPICA

ATERCIOPELADA AMARILLO A CAFE

MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE LOS CONIDIOFOROS

LARGOS VARIABLE RUGOSOS

MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE LOS ESTERIGMAS

UNICA O DOBLE CUBRE TODA LA VESICULA



Figura 1(c)

ALTERNARIA

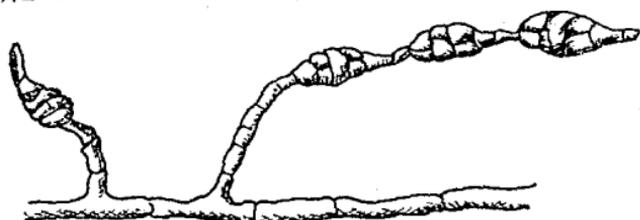


Figura 2

CANDIDA

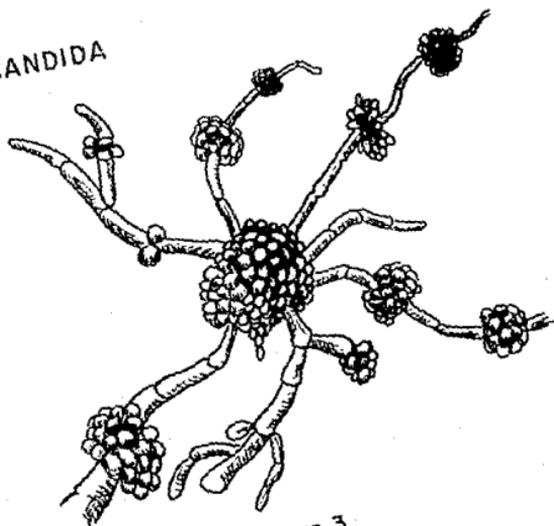


Figura 3

GENERO: Cephalosporium

La colonia madura en aproximadamente 5 días. Al principio es compacta, plegada y su consistencia es aterciopelada. Posteriormente pierde los pliegues, se convierte en algodonosa, presentando un color blanco, gris o rosado. El reverso no presenta pigmentación aunque en ocasiones puede ser amarillo pálido o rosado.

Hifas septadas, erectas, con conidióforos lisos y delgados. Los conidios son oblongos, generalmente unicelulares aunque pueden presentarse divididos en dos o más células. Los conidios se agrupan formando conglomerados multicelulares al final de las filoides. (Figura 4)

GENERO: Cladosporium (Hormodendrum)

La colonia madura en 7 a 10 días. Es de superficie oscura, de consistencia dura y su superficie radiada, con el centro ligeramente elevado. Está cubierta con una capa aterciopelada de color gris verdoso o verde pardo. El reverso es negro con ranuras radiales.

Hifas septadas con conidióforos laterales y terminales muy variables en tamaño. La esporulación tipo Cladosporium presenta conidióforos con cadenas largas de conidios, de pared lisa, ovalados, que se dispersan muy fácilmente y que además son muy abundantes, presentando una coloración

CEPHALOSPORIUM

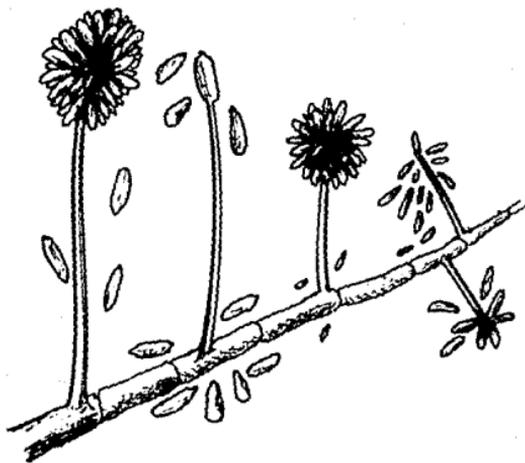


Figura 4

simétricas.

ción verde oscuro. La esporulación tipo Hormodendrum presenta cadenas cortas y ramificadas, de conidios con las mismas características de las antes mencionadas. (Figura 5)

GENERO: Helminthosporium

La colonia madura dentro de los 5 días de incubación. La superficie al principio es grisácea, o verdosa, que generalmente se torna de color negro, siendo más intenso en el centro, con la periferia de color gris claro. El reverso es negro, pero puede haber especies que lo presentan claro.

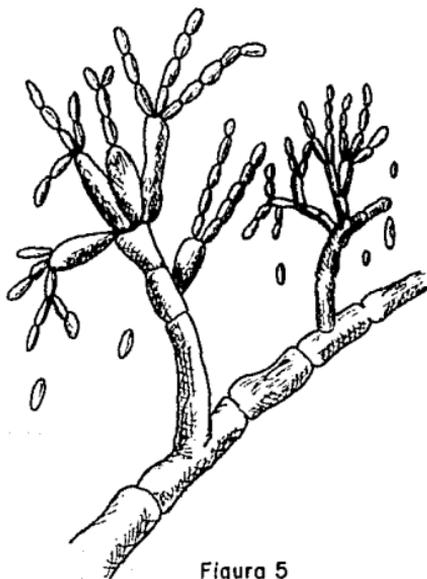
Hifas septadas con conidióforos también septados, algunas veces ramificados, de color oscuro, con una característica apariencia nodosa, torcida, al final de la cual se encuentran los conidios, que son morenos, elongados y contienen en su interior dos o más células, dando la apariencia de huevos de helmintos (de ahí su nombre). (Figura 6)

GENERO: Mucor

Crecimiento rápido, de 2 a 3 días. Rápidamente cubre la superficie de crecimiento con un micelio algodonoso, blanco,

Hifas no septadas. Esporangióforos largos que se ramifican y presentan esporangios redondos, terminales, llenos de esporas.

CLADOSPORIUM (HORMODENDRUM)



HELMINTHOSPORIUM

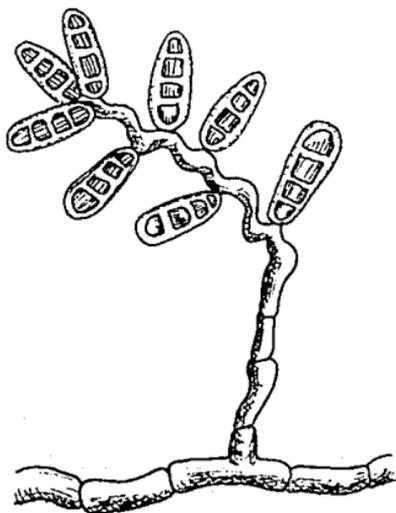


Figura 6

que posteriormente puede tornarse de color gris. El reverso es blanco.

Las paredes de los esporangios se rompen fácilmente, liberando esporas ovaladas y pueden perder la columela. No presentan rizoides. (Figura 7)

GENERO: Penicillium

Superficie colonial blanca al principio, después se torna muy pulverulenta, de color azul verdoso con un borde blanco. Puede presentar también superficie amarillenta o permanecer blanca. El reverso generalmente es amarillo, aunque puede ser también de color blanco. Madura en 4 ó 5 días.

Hifas septadas, con conidióforos ramificados que presentan otras ramificaciones secundarias conocidas como mótulas, sobre éstas, agrupadas en ramillete, se encuentran fiálides en forma de botella, que liberan esporas en cadenas sencillas. La estructura completa toma la apariencia característica de cepillo o penicilo. Se diferencia de Paecilomyces por la forma de las fiálides, que en el último género son más largas y adelgazadas hacia su ápice. (Figura 8)

GENERO: Phialophora

Colonia de consistencia dura, - Hifas septadas, de color café o

MUCOR

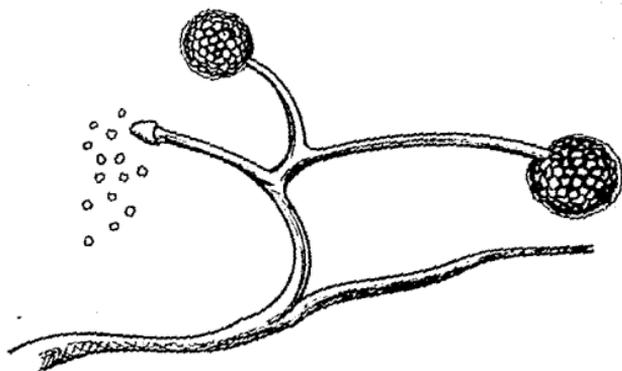


Figura 7

PENICILLIUM

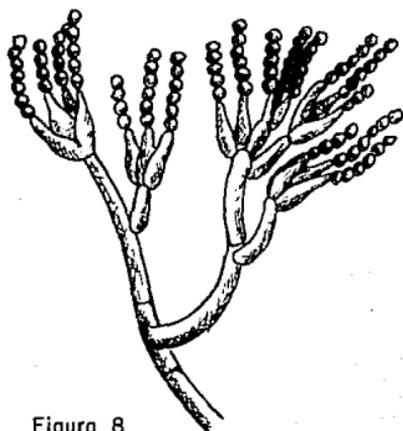


Figura 8

de color verde oscuro o café, con un matiz verde olivo a las orillas. La superficie es granular aunque algunas colonias pueden presentar superficie lisa. Pueden presentar también pliegues en forma radial, con el centro ligeramente elevado. El reverso es negro. La colonia madura en 7 a 10 días.

verde olivo, muy ramificadas y con filídes, que pueden ser únicas o múltiples, laterales o terminales, y que fácilmente liberan masas de conidios ovales, que se agrupan en acúmulos mucilaginosos en la boca de dichas filídes. Presenta una esporulación muy abundante con conidios ovales, que pueden presentar pequeñas espinas en su pared. (Figura 9)

GENERO: Rhizopus

Colonia de crecimiento muy rápido, que madura en 3 a 4 días, cubriendo totalmente la superficie del medio, con una colonia de superficie algodonosa, que al principio es blanca, y que posteriormente se cubre con pequeños puntos oscuros, morenos o grises, que corresponden a los esporangióforos. El reverso es blanco.

Hifas gruesas, no septadas, numerosos estolones que corren entre ellas conectando grupos de esporangios grandes, generalmente no ramificados. en los puntos en donde los estolones y los esporangios se encuentran, se presentan hifas en forma de raíces, que constituyen los rizoides. Los esporangióforos terminan en un esporangio oscuro, redondo, conteniendo una columela-

de color verde oscuro o café, con un matiz verde olivo a las orillas. La superficie es granulada aunque algunas colonias pueden presentar superficie lisa. Pueden presentar también pliegues en forma radial, con el centro ligeramente elevado. El reverso es negro. La colonia madura en 7 a 10 días.

verde olivo, muy ramificadas y con filídes, que pueden ser únicas o múltiples, laterales o terminales, y que fácilmente liberan masas de conidios ovales, que se agrupan en acúmulos mucilaginosos en la boca de dichas filídes. Presenta una esporulación muy abundante con conidios ovales, que pueden presentar pequeñas espinas en su pared. (Figura 9)

GENERO: Rhizopus

Colonia de crecimiento muy rápido, que madura en 3 a 4 días, cubriendo totalmente la superficie del medio, con una colonia de superficie algodonosa, que al principio es blanca, y que posteriormente se cubre con pequeños puntos oscuros, morenos o grises, que corresponden a los esporangióforos. El reverso es blanco.

Hifas gruesas, no septadas, numerosos estolones que corren entre ellas conectando grupos de esporangios grandes, generalmente no ramificados. En los puntos en donde los estolones y los esporangios se encuentran, se presentan hifas en forma de raíces, que constituyen los rizoides. Los esporangióforos terminan en un esporangio oscuro, redondo, conteniendo una columela-

PHIALOPHORA

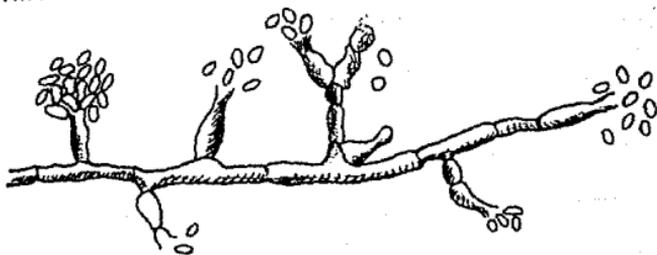


Figura 9

y muchas esporas ovaes. Este género se diferencia de Mucor por la presencia de estolones, rizoides y esporangióforos solitarios. Se diferencia de Absidia por la localización de los rizoides en relación a los esporangióforos. (Figura 10)

RHIZOPUS

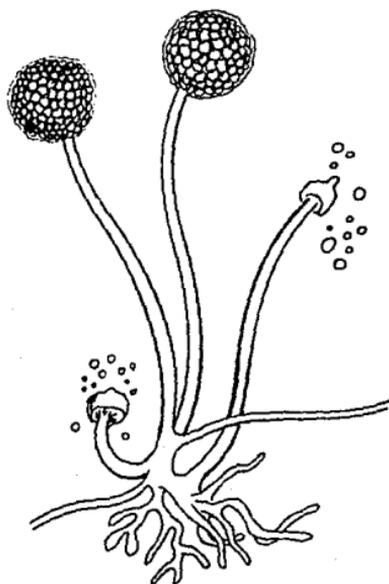


Figura 10

- B) Estudios de correlación entre alergias clínicas y aislamiento de los hongos causantes.

a) Estudio retrospectivo:

La segunda parte del trabajo consistió en correlacionar la presencia de alergias clínicas en pacientes pediátricos con el aislamiento de los hongos causantes de alergia, en los domicilios de dichos pacientes. Para tal efecto, se realizaron dos tipos de estudios: uno retrospectivo y otro prospectivo. El estudio retrospectivo consistió en la revisión de 293 expedientes clínicos de niños con diversas alergias, elegidos al azar en un período comprendido de 1974 a 1984 del Archivo Clínico del Instituto Nacional de Pediatría, S.A.A., eligiendo aquellos expedientes de niños residentes en el área del Distrito Federal. Aquellos que correspondieron a alergias por hongos, fueron considerados aparte, ya fuera existiendo o no asociación con otros alérgenos. Se anotaron también los datos de los niños que presentaron alergias a otros agentes.

Otros factores que se tomaron en cuenta fueron: edad, sexo y diagnóstico clínico. Estos datos se tabularon aparte con el fin de relacionarlos con la frecuencia de género y especies de hongos ambientales causantes de dichas alergias.

b) Estudio prospectivo:

El estudio prospectivo consistió en tomar 100 casos de niños alérgicos a hongos, que presentaban positividad a la prueba cutánea. Estos casos fueron tomados igualmente de pacientes que asistían la consulta externa del Servicio de Alergia del Instituto mencionado anteriormente. Se procedió a efectuar un muestreo intradomiciliario en todos los casos para aislar hongos anemófilos de acuerdo a la metodología anteriormente descrita; es decir, exponiendo en cada habitación una caja de Petri conteniendo medio de Sabouraud simple, por espacio de 10 minutos. Posteriormente en el laboratorio, las cajas se incubaron durante 5 a 7 días a temperatura ambiente, al cabo de los cuales se efectuó la identificación macro y microscópica del género o géneros correspondientes a la causa de la alergia en cada caso.

Se procesaron los datos clínicos y de aislamiento y posteriormente se correlacionaron para observar la frecuencia de pruebas cutáneas positivas a el o los hongos causantes de la alergia en cada caso y la presencia de esos hongos en los domicilios de los pacientes.

C) Elaboración de antígenos.

La tercera parte del trabajo consistió en elaborar antígenos metabólicos de los hongos considerados como alérgicos, con los géneros que habían sido probados por pruebas cutáneas en los niños asistentes al Servicio de Alergia del Instituto Nacional -

de Pediatría, los que fueron descritos anteriormente tanto en su morfología colonial y microscópica; es decir:

Aspergillus, Alternaria, Candida, Cephalosporium, Cladosporium, Helminthosporium, Mucor, Penicillium, Phialophora y Rhizopus.

Las cepas se obtuvieron a partir de los aislamientos domiciliarios efectuados en la fase anterior del estudio.

Para la elaboración de estos antígenos se utilizaron matraces Erlenmeyer de 2000 ml conteniendo 1000 ml de medio de Sabouraud simple líquido, estéril, en el cual se sembró en cada matraz un inóculo de los hongos previamente cultivados en tubos con agar dextrosa Sabouraud y conservados a temperatura ambiente.

Una vez inoculados los matraces, cada hongo se cultivó durante 15 días, a temperatura ambiente y al abrigo de la luz. Al cabo de este tiempo se cosechó el líquido, efectuando un filtrado que consistió en varios pasos:

- a) Filtrado por gasa estéril para separar el micelio del medio de cultivo.
- b) Filtrado por papel filtro Whatman, con poros correspondientes a los números del 1, 4 y 42, para eliminar

las partículas grandes.

- c) Filtrado por Sistema Millipore utilizando membranas - con poros de diámetro de 0.45 y 0.22 μ m con el fin de obtener un filtrado estéril del cultivo en líquido.

Posteriormente al filtrado por Sistema Millipore, se procedió a concentrar el antígeno metabólico, contenido en el líquido por medio de diálisis en tubo con poro de 1-7/8 de diámetro, para obtener una concentración de 10 veces su volumen. Una vez obtenido el volumen requerido, se colocó en matraces Erlenmeyer de 250 ml estériles y se almacenó en congelación para su uso posterior.

Para la elaboración del antígeno de Candida, se siguió el siguiente procedimiento:

Se cultivó la levadura en medio de Sabouraud líquido en agitación durante 48 hrs., a 80 rpm, con el fin de que las levaduras crezcan rápidamente con pared delgada y globosa.

Después del cultivo se centrifugó para separar el paquete de levaduras, 3 veces con agua destilada y una vez con solución salina a concentración de 1:1000. Posteriormente se concentró la solución de levaduras hasta llegar a una consistencia de atole, a continuación se rompieron las levaduras por el método de -

Ribi a una velocidad de 20 000 a 40 000 golpes por minuto durante 2 minutos, lo que produjo un rompimiento del 80% de las levaduras.

Se centrifugó la suspensión de levaduras a 6 000 rpm durante 30 minutos, hasta que el sobrenadante apareció transparente y se desechó el paquete de levaduras rotas. El sobrenadante se dializó en agua destilada durante toda la noche para concentrarlo en tubo de diálisis con poro de 1-7/8 hasta la 4a. parte de su volumen.

Una vez obtenida esta concentración se colocó en matraces-Erlenmeyer de 250 ml estériles y se conservó en congelación para su uso posterior, al igual que los otros concentrados.

A todos los antígenos se les efectuó determinación de proteínas y carbohidratos, siguiendo los métodos de Lowry (67) y Dubois (39), respectivamente.

V. RESULTADOS

A) FRECUENCIA Y VARIACION ESTACIONAL

En la primera fase del trabajo, el total de colonias obtenidas en las 6 zonas y durante los 12 meses fue de 14,409, habiéndose aislado un promedio de 22 por caja. En las zonas de San Jerónimo y San Angel se aisló un mayor número de hongos a lo largo del estudio, habiendo obtenido 22.24% y 20.0%, respectivamente, de frecuencia de aislamientos; en cambio en Coyoacán y Xochimilco se observaron las frecuencias más bajas, correspondiendo éstas a un 13% (Tabla V).

En la Tabla VI se anota la frecuencia de géneros aislados, donde se aprecia que fue posible identificar 26 géneros diferentes; en orden de frecuencia se pueden anotar como los más importantes a Rhodotorula (16.78%), Phialophora (14.37%), Penicillium (5.15%) y Alternaria (4.43%). Algunos hongos solamente se clasifican como grupo, obedeciendo esto a la complejidad del estudio y de las miles de especies de mohos y levaduras de vida libre, que no es posible identificar en todos los casos y dentro de los cuales destacan los hongos filamentosos pigmentados (31.11%), levaduras blancas (9.27%), filamentosos hialinos (7.3%) y levaduras pigmentadas (4.97%). Los hongos relacionados con problemas alérgicos sí pueden ser clasificados con relativa facilidad, ya que son comunes en el medio ambiente y por otra parte al ser de-

importancia médica, se conocen las bases de su determinación taxonómica.

La frecuencia de éstos se encuentra en la Tabla VII donde se observa que de los 13 géneros aislados, los más frecuentes fueron Phialophora (51.9%), Penicillium (18.65%) y Alternaria (16.04%), siendo este último el más comúnmente señalado como responsable de alergias; Aspergillus, el cual se encontró en un 2.79%, es un hongo tanto causante de alergias como de diversas micosis, así como potencial productor de micotoxicosis, por lo que recibió mayor atención en la identificación de especies, cuyo total fue: A. niger (44.14%); A. fumigatus (24.33%), A. flavus (13.51%), A. terreus (6.31%) y A. glaucus (0.9%).

Las áreas con mayor número de aislamientos de este género (46%) fueron aquellas con abundante vegetación.

Tabla V

Total de colonias aisladas de seis zonas del sur de la
Ciudad de México

Zona	No. de colonias	%
San Jerónimo	3 239	22.45
San Angel	2 842	20.00
Pedregal de Carrasco	2 250	15.50
Tlalpan	2 207	15.25
Coyoacán	1 958	13.55
Xochimilco	1 913	13.25
Total	14 409	100.00

Total de cajas expuestas: 648

Promedio de colonias por caja: 22

Tabla VI

Total de géneros aislados en seis zonas del sur de la Ciudad de México durante 12 meses

Género	No. de colonias	%
<u>Rhodotorula</u>	2 418	16.78
* <u>Phialophora</u>	2 071	14.37
* <u>Penicillium</u>	743	5.15
* <u>Alternaria</u>	639	4.43
* <u>Cladosporium</u>	132	0.96
* <u>Aspergillus</u>	111	0.77
* <u>Candida</u>	108	0.75
<u>Gliocladium</u>	89	0.62
<u>Monilia</u>	60	0.42
* <u>Rhizopus</u>	46	0.32
* <u>Mucor</u>	37	0.25
<u>Paecilomyces</u>	32	0.22
* <u>Helminthosporium</u>	30	0.21
<u>Monosporium</u>	18	0.12
<u>Micelio estéril</u>	13	0.09
<u>Pullularia</u>	8	0.05
* <u>Cephalosporium</u>	7	0.04
<u>Curvularia</u>	5	0.03
<u>Stemphyllium</u>	5	0.03
<u>Phoma</u>	4	0.03
<u>Geotrichum</u>	4	0.03
Otros géneros (<u>Verticillium</u> , <u>Fusarium</u> , <u>Chrysosporium</u> y <u>Sporotrichum</u>)	4	0.03
Filamentosos pigmentados	4 483	31.11
Levaduras blancas	1 335	9.27
Filamentosos hialinos	1 052	7.30
Levaduras pigmentadas	716	4.97
Actinomicetes	136	0.94
Ficomícetes	90	0.62
No identificados	13	0.09
Total	14 409	100.00

NOTA: Los géneros marcados con asterisco (*) corresponden a los principales causantes de alergias tomados posteriormente para estudios subsecuentes, de acuerdo a pruebas cutáneas.

Tabla VII

Densidad apreciativa de hongos alérgenos aislados en tres áreas del sur de la Ciudad de México, de acuerdo a la abundancia de vegetación

	<u>Phialophora</u>	<u>Penicillium</u>	<u>Alternaria</u>	<u>Aspergillus</u>	<u>Candida</u>	<u>Cladosporium</u>	<u>Monilia</u>	<u>Rhizopus</u>	<u>Mucor</u>	<u>Helminthosporium</u>	<u>Stemphylium</u>	<u>Fusarium</u>	<u>Total</u>
Area con abundante vegetación:	1 071	311	430	51	77	72	44	30	23	15	3	1	1 928 (48.4%)
- San Jerónimo													
- Xochimilco													
- Tlalpan													
Area con moderada vegetación:	570	324	229	43	16	9	8	10	12	7	0	0	1 228 (31.6%)
- Coyoacán													
- San Angel													
Area con escasa vegetación:	430	78	128	17	15	51	8	6	2	8	2	0	797 (20.0%)
- Pedregal de Carrasco													
T o t a l e s	2 071	713	639	111	108	132	60	46	37	30	5	1	3 953 (100.00%)

En todas las zonas estudiadas se encontraron frecuencias similares de hongos productores de alergias; sin embargo, como se anota en la Tabla VII, en las zonas de mayor densidad de vegetación se registraron los más altos porcentajes de aislamientos (48.4% en las zonas muy vegetadas y 20.0% en las zonas menos vegetadas). Asimismo se muestra la frecuencia de hongos causantes de alergia, en relación al género y a las zonas, siendo Phialophora, Penicillium y Alternaria los mayormente encontrados, sobre todo en las zonas con abundante vegetación.

En la gráfica I se muestra en cifras porcentuales, la frecuencia mensual y la variación estacional de todos los hongos encontrados; en los meses del verano, que coinciden con los de mayor humedad atmosférica, se encontraron los más altos porcentajes de aislamientos (17%), en oposición a los meses de invierno en que se registraron las cifras más bajas (1.2%).

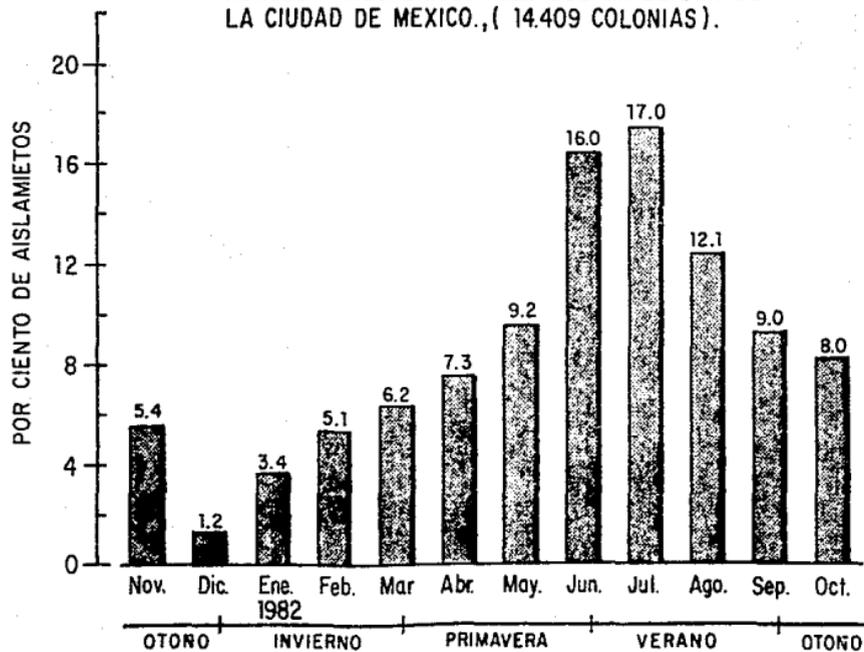
En la gráfica 2 se anota en cifras porcentuales, la frecuencia mensual y la variación estacional de los hongos productores de alergias. No obstante que las frecuencias fueron irregulares de un mes a otro, se aprecia que la tendencia de la curva promedio tiende a aumentar progresivamente desde el mes de diciembre, donde se observa la frecuencia mínima hasta el mes de octubre, donde alcanzó la máxima frecuencia. Se observa también, a lo largo del año, importantes oscilaciones con períodos de 3 a 4 meses, lo cual podría obedecer a los ciclos de reproducción es

tacionaria de estos hongos.

Es importante señalar que la variación estacional de los -
hongos productores de alergia no es similar a la que se encontró
con el resto de la flora micótica aislada.

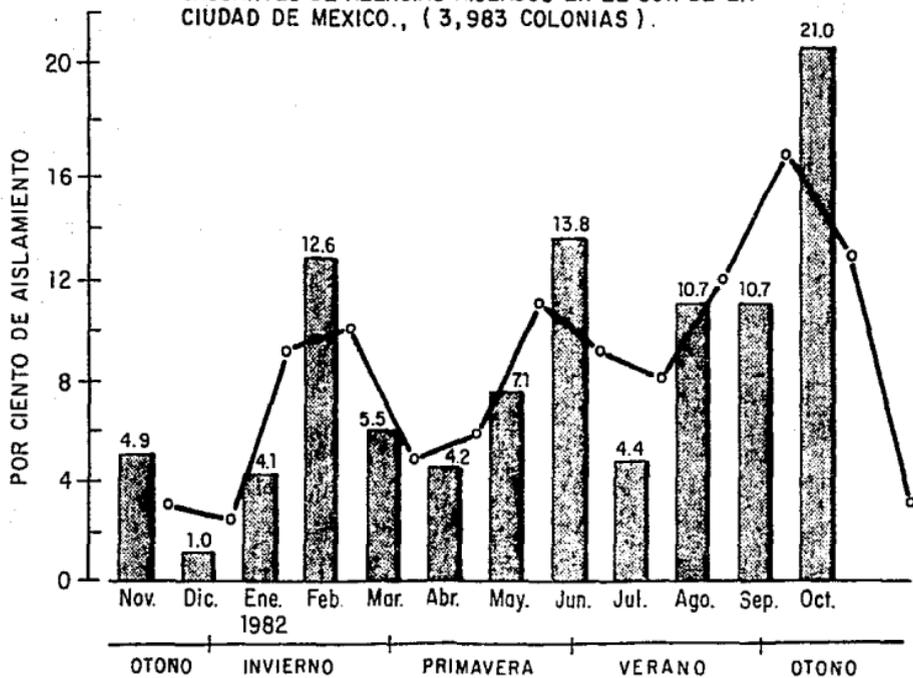
GRAFICA 1

FRECUENCIA MENSUAL Y VARIACION ESTACIONAL DE HONGOS ATMOSFERICOS AISLADOS EN EL SUR DE LA CIUDAD DE MEXICO.,(14.409 COLONIAS).



GRAFICA 2

FRECUENCIA MENSUAL Y VARIACION ESTACIONAL DE HONGOS CAUSANTES DE ALERGIAS AISLADOS EN EL SUR DE LA CIUDAD DE MEXICO., (3,983 COLONIAS).



B) CORRELACION ENTRE ALERGIAS Y AISLAMIENTO DE HONGOS

a) Estudio retrospectivo

En la segunda fase del trabajo, referente al estudio retrospectivo de 10 años, se vio que de los 293 expedientes clínicos revisados, 118 (40.2%) correspondieron a casos con alergia a hongos, mientras que 175 (59.7%), presentaban alergia a otros factores. Los datos obtenidos establecieron la frecuencia por sexos, perteneciendo 63 casos (52.4%) al sexo masculino y 55 (46.6%) al femenino, por lo que se puede apreciar que, aunque existe un ligero predominio de alergias en el sexo masculino, no hay una diferencia significativa entre los dos sexos.

En cuanto a la edad, la mayor cantidad de expedientes correspondieron a niños cuya edad oscilaba entre 4 y 10 años, perteneciendo la mayoría a las etapas más tempranas; es decir, de 1 a 5 años (50 casos, 42.5%); de los 6 a los 10 años fue de 47 casos (39.8%) y de 11 a 15 años, de 20 casos (19.9%).

Para establecer el diagnóstico clínico en cada caso, se tomaron en cuenta la sintomatología y el tiempo de evolución de la alergia, datos que fueron colectados por los médicos del Servicio de Alergia del Instituto Nacional de Pediatría, y anotados en los expedientes clínicos (Tabla VIII). Se encontró que en la mayoría de los casos se había diagnosticado asma bronquial, ade-

más de otras entidades tales como: faringitis, rinitis, amigdalitis, bronquitis crónica y sinusitis. Solamente en tres casos no se encontró reportado el diagnóstico de asma bronquial, siendo solamente rinitis en dos y faringitis en uno (1.7 y 0.8% respectivamente).

Tabla VIII

DIAGNOSTICO CLINICO DE NIÑOS CON ALERGIA RESPIRATORIA A HONGOS

DIAGNOSTICO	No.	%
Asma bronquial	100	84.7
Asma bronquial + sinusitis	5	4.3
Asma bronquial + rinitis	4	3.5
Asma bronquial + amigdalitis	3	2.5
Asma bronquial + rinofaringitis	2	1.7
Rinitis	2	1.7
Faringitis	1	0.8
Asma bronquial + bronquitis crónica + sinusitis	1	0.8
T O T A L	118	100

De acuerdo con las pruebas cutáneas practicadas en los niños, se obtuvieron los alérgenos causantes de su patología respiratoria, los cuales no sólo correspondieron a hongos, sino que también se encontraron otros tipos de alérgenos. (Tabla IX). En cuanto a los géneros encontrados como causantes más frecuentes de alergia fueron: Aspergillus, Cladosporium, Candida y Alternaria, presentándose también en 199 casos dos o más géneros de hongos alérgenos. En relación a otros alérgenos encontrados en los 293 niños del estudio retrospectivo se observó que los principales agentes fueron los pólenes, seguidos de polvo casero y ácaros, principalmente del género Dermatophagoides. Estos alérgenos fueron tomados en consideración por su presencia en las alergias fúngicas, provocando mayor severidad en los cuadros asmáticos de los niños alérgicos (Tabla x).

Tabla IX
 FRECUENCIA DE HONGOS CAUSANTES DE ALERGIA
 DE ACUERDO A PRUEBAS CUTANEAS

HONGOS	No.	%
<u>Aspergillus</u>	36	18
<u>Cladosporium</u>	26	13
<u>Candida</u>	23	11.6
<u>Alternaria</u>	22	11
<u>Mucor</u>	21	10.6
<u>Penicillium</u>	21	10.6
<u>Helminthosporium</u>	20	10.1
<u>Rhizopus</u>	16	8
<u>Cephalosporium</u>	7	3.6
<u>Streptomyces</u>	5	2.5
<u>Absidia</u>	2	1
T O T A L	199	100

Tabla X

Otros alergenosen considerados en el estudio

Alergenosen	No.	%
Pólenes	77	39.0
Polvo casero	57	29.0
Acaros	44	22.5
Pastos	2	1.1
Leche	2	1.1
Algodón	2	1.1
Felos de conejo	1	0.6
Felos de gato	1	0.6
Caseína	1	0.6
Pochote	1	0.6
Lana	1	0.6
Lino	1	0.6
Sin otros alergenosen	5	2.5
T o t a l	195	100.0

b) Estudio prospectivo:

Al establecer la relación entre las pruebas cutáneas positivas a alérgenos fúngicos y la frecuencia de aislamientos de hongos en sus domicilios, se encontró el o los hongos causantes específicamente de la alergia en el 89% de los 100 niños estudiados. Solamente en 11 casos no se encontró ninguno de los hongos correspondientes a las pruebas cutáneas. En la tabla XI se enumeran estos géneros, siendo los mayormente aislados Aspergillus, Cladosporium, Candida y Alternaria. Otros géneros no considerados como alérgenos, pero tomados en cuenta en este estudio, se reportan también, ya que fueron aislados en las 100 casos de los niños con alergia a hongos. Estos se muestran en la tabla XII. En la tabla XIII se puede observar que existe una correlación altamente positiva entre los aislamientos domiciliarios y la presencia de la alergia, corroborada ésta por pruebas cutáneas, ya que la mayoría de las veces fue de más del 50%.

En la gráfica 3 se observa la relación que existe entre los dos estudios efectuados, estableciendo la frecuencia de hongos causantes de alergia de acuerdo a las pruebas cutáneas practicadas en los pacientes y también la frecuencia de los aislamientos domiciliarios. De acuerdo a los datos obtenidos, se observa que esta frecuencia no ha cambiado a lo largo de los años, pues tanto en el estudio retrospectivo como en el prospectivo, los géneros más frecuentes fueron los mismos.

GRAFICA 3

FRECUENCIA DE HONGOS CAUSANTES DE ALERGIA
DE ACUERDO A PRUEBAS CUTANEAS

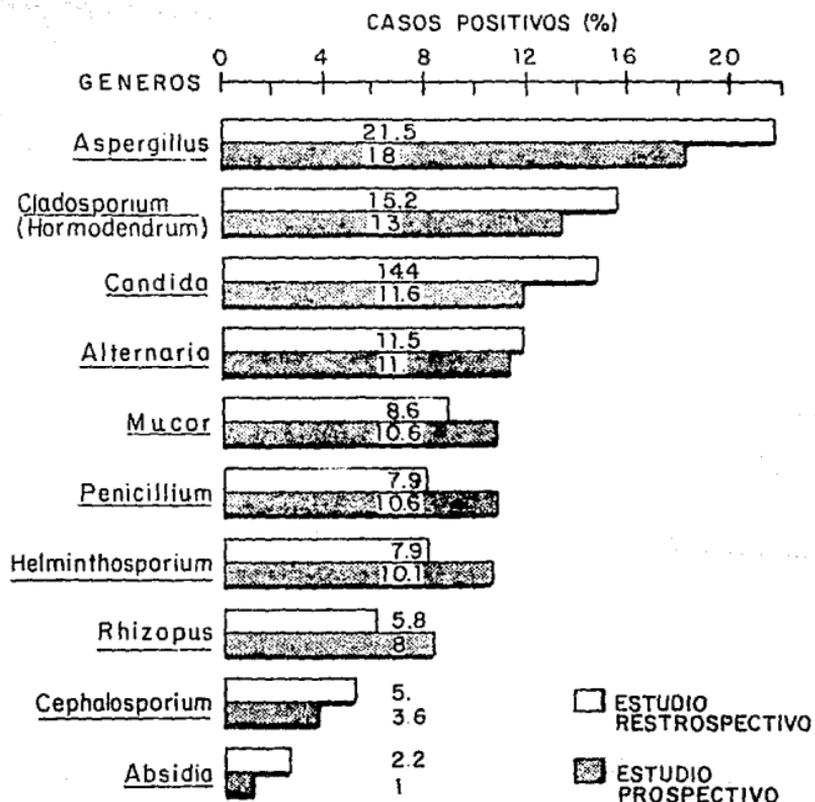


Tabla XI

Frecuencia de hongos causantes de alergia de acuerdo a pruebas cutáneas

Hongos	No.	%
<u>Aspergillus</u>	36	18.0
<u>Cladosporium</u>	26	13.0
<u>Candida</u>	23	11.6
<u>Alternaria</u>	22	11.0
<u>Mucor</u>	21	10.6
<u>Penicillium</u>	21	10.6
<u>Helminthosporium</u>	20	10.1
<u>Rhizopus</u>	16	8.0
<u>Cephalosporium</u>	7	3.6
<u>Streptomyces</u>	5	2.5
<u>Absidia</u>	2	1.0
T o t a l	199	100.0

Tabla XII

Hongos no reportados como alérgenos encontrados en
100 casas de niños con alergia respiratoria a hongos

Género	No.	%
<u>Rhodotorula</u>	100	100
<u>Phialophora</u>	100	100
<u>Monilia</u>	17	17
<u>Fusarium</u>	16	16
<u>Geotrichum</u>	2	2
<u>Monosporium</u>	1	1
<u>Paecilomyces</u>	1	1
<u>Stemphyllium</u>	1	1

Tabla XIII

Correlación entre pruebas cutáneas positivas y aislamientos domiciliarios (100 casos)

Hongo alergeno	Pruebas cutáneas positivas (N° pacientes)	Aislamientos domiciliarios (número)	Porcentaje de correlación
<u>Aspergillus</u>	30	23	76.7
<u>Cladosporium</u>	21	21	100.0
<u>Candida</u>	20	18	90.0
<u>Alternaria</u>	16	16	100.0
<u>Mucor</u>	12	9	75.0
<u>Penicillium</u>	11	10	90.9
<u>Helminthosporium</u>	11	4	36.4
<u>Cephalosporium</u>	8	4	50.0
<u>Rhizopus</u>	7	6	85.7
<u>Absidia</u>	3	3	100.0

C) ELABORACION DE ANTIGENOS

Después de haber concentrado los antígenos y procedido a hacer las determinaciones de proteínas y carbohidratos, se obtuvieron los resultados que se muestran en la siguiente tabla:

Tabla XIV

Concentración de Proteínas y Carbohidratos de los Antígenos Concentrados de los Hongos causantes de Alergia ([] mg/ml)

Hongo	[] Proteínas	[] Carbohidratos
<u>Alternaria</u>	2 892	200
<u>Aspergillus</u>	2 800	235
<u>Candida</u>	2 890	200
<u>Cephalosporium</u>	2 539	230
<u>Cladosporium</u>	2 248	248
<u>Helminthosporium</u>	2 992	205
<u>Mucor</u>	2 845	213
<u>Penicillium</u>	2 905	238
<u>Phialophora</u>	2 250	249
<u>Rhizopus</u>	2 900	215

Los valores normales de proteínas se encuentran en el rango de 1500-3000 mg/ml de proteínas y de 200-250 mg/ml de carbohidratos.

VI. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los hallazgos del primer estudio demostraron la existencia de una gran población de hongos atmosféricos, ya que un promedio de aislamientos de 22 colonias por caja se considera elevado. Lo anterior coincide con diversas encuestas efectuadas tanto en nuestro país como en otras partes del mundo, en las cuales fueron aislados los mismos géneros que en México; sin embargo, las diferencias que existen entre las diferentes encuestas pueden deberse, entre otras cosas, a condiciones climáticas imperantes en las regiones estudiadas, ya que a partir de algunas observaciones se ha encontrado que no sólo hay diferencias entre un clima y otro, sino también en las diferentes estaciones del año dentro de un mismo ambiente ecológico, encontrando que durante la estación húmeda se observan los mayores índices de población fúngica.

Los resultados de la presente investigación coinciden con lo anterior, ya que el mayor número de aislamientos se obtuvo durante los meses de mayo a octubre. La cantidad de colonias aisladas por cada zona estudiada, también estuvo en relación directa con la abundancia de sustratos, ya que en la zona de San Jerónimo, una de las de mayor vegetación, fue donde se aisló la mayor proporción de hongos (22.47%). Estudios anteriores han considerado este factor como determinante para la densidad de hongos, hecho que podría influir en la frecuencia de los procesos alérgicos respiratorios. El género Aspergillus, tan ubicuo en -

la naturaleza, siempre ha sido aislado entre los primeros lugares de frecuencia, siendo las especies más frecuentes:

A. niger, A. fumigatus y A. flavus, recalcando así la importancia de estas especies, causantes tanto de aspergilosis infecciosas como de aflatoxicosis (A. flavus) y de aspergilosis alérgicas broncopulmonares.

Existen muchas técnicas para elaborar antígenos a partir de los cultivos de hongos. Las más frecuentemente utilizadas son aquellas en las que es posible extraer del alérgeno en cuestión, productos ya sea metabólicos o somáticos que en un momento dado tengan la suficiente actividad para desencadenar los fenómenos adecuados para evaluar ya sea in vivo o in vitro la capacidad de respuesta o estimulación necesarios en cada caso.

Las reacciones inmunológicas en las que se utilizan estas preparaciones, son generalmente para uso diagnóstico, aunque también proveen información para el pronóstico de la enfermedad. Las sustancias antigénicas están producidas por filtrados de cultivos o células rotas. La discusión de todos y cada uno de los métodos utilizados no tienen ninguna aplicación práctica, ya que existe gran variedad de técnicas y de medios de cultivo utilizados, así como las condiciones de crecimiento de cada preparación. Además, los efectos de estas variables se observan también en la composición antigénica final del producto, combinado-

con las variaciones naturales entre los diferentes géneros de hongos, crean uno de los problemas más complejos para reproducir y comparar los resultados entre diferentes investigadores dedicados a estos campos. Por lo tanto, cada género o especie debiera ser explicada en términos de ejemplos específicos por cada hongo, eligiendo siempre la más apropiada.

Las sustancias antigénicas extraídas a partir de los hongos han sido utilizadas a lo largo del tiempo, para desencadenar reacciones o demostrar inmunidad como una ayuda diagnóstica. Todos los antígenos fúngicos contienen múltiples determinantes, mientras no sean sometidos a purificación y sus variados usos se han justificado ampliamente al haber sido valorados durante largo tiempo y habiendo probado así su efectividad en la práctica clínica así como su especificidad y susceptibilidad dentro de límites reconocidos, aún cuando existen serios problemas por la complejidad de su composición y la presencia de estos determinantes antigénicos, similares o idénticos entre diferentes géneros. La complejidad de estas preparaciones requiere ensayos biológicos que sean capaces de determinar las concentraciones óptimas para cada prueba. Sin embargo, la estandarización de los reactivos puede variar de un laboratorio a otro. Esto, aunado a las variaciones biológicas de cada caso, hace imposible eliminar las diferencias tanto cualitativas como cuantitativas en las respuestas. La solución de este problema requiere, en un futuro próximo, unificar criterios en la elaboración de los antígenos, basan

dose en criterios de homogeneidad físico-químico e inmuoquímico a nivel universal.

Con base en todos estos resultados obtenidos, se llegó a las siguientes conclusiones:

- 1) Los hongos ambientales constituyen una importante fuente de alergias respiratorias.
- 2) Cualquier género de hongos anemófilos puede ser causante de alergia; sin embargo, existen algunos géneros - más frecuentes, como son: Aspergillus, Penicillium, Candida y Alternaria.
- 3) Los hongos anemófilos presentan importantes variaciones, de acuerdo a las condiciones climatológicas de cada región.
- 4) La correlación entre aislamientos intradomiciliarios y la presencia de alergias clínicas en población pediátrica es evidentemente positiva, llegando en su mayoría a más del 75%.
- 5) La frecuencia de estos hongos no ha presentado variación a lo largo del tiempo, ya que tanto en el estudio retrospectivo (10 años) como en el prospectivo los pr

meros lugares fueron ocupados por los mismos géneros.

- 6) Las pruebas cutáneas utilizadas en el diagnóstico de las alergias, al ser correlacionadas con el aislamiento domiciliario del hongo correspondiente, son fundamentales en el manejo y prevención de fenómenos alérgicos respiratorios.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. AAS, K. (1971). Hipo-sensitization in house dust allergy asthma. A double-blind study with evaluation of the effect on the bronchial sensitivity to house dust allergens. Acta Paediat. Scand. 60,246.
2. AAS, K. (1979). Standardization of allergens extracts by appropriate methods. The combined use of skin prick testing and RAST. Allergy, 33,130.
3. AAS, K. (1980). What makes an allergen an allergen? Allergy, 33,3.
4. AAS, K., AUKRUST, L. (1984). Immediate hypersensitivity responses to fungal antigens. In: Mould Allergy, Lea and Febiger, Philadelphia.
5. AL-DOORY, Y., DOMSON, J.F. (1984). Mould Allergy. Lea and Febiger, Philadelphia.
6. ALEXOPOULOS, C., MIMS, C.W. (1979). Introductory Mycology. J. Willey and Sons, New York.
7. ANDERSEN, I., LUNDQUIST, G.R. (1974). Human response to 78-hour exposure to dry air (a). Arch, Environment Health. 29,319.
8. ANDERSEN, I., LUNDQUIST, G.R. (1974). Formaldehyde in the atmosphere in Danish homes (b). Ugeskr. Loeg. 136,2133.
9. ANDERSEN, I., LUNDQUIST, G.R. (1974). Human response to controlled levels of sulphur dioxide (c). Arch. Environment. Health. 28,31.
10. ASCHAN, G. (1974). Descongestion of nasal mucous membranes by oral medication in acute rhinitis. Acta Oto-laryng (Stockh).77, 433.
11. AUKRUST, L. (1979). Crossed radio immunoelectrophoresis studies of distinct allergens in two extracts of Cladosporium herbarum. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 58,371.
12. AUSTWICK, P.K.C. (1966). The role of spores in the allergies and mycoses of man and animals. In: The Fungus Spore. Madelein Butterworths. London.
13. AYERST, G. (1969). The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. J. Stored Prod. Res. 5,127.

14. BAEZA, G. (1987). Estudio de hongos anemófilos causantes de asma/rinitis en niños en Villahermosa, Tab. Bol. Med. Hosp. Inf. Méx. 38 (4),275.
15. BASSET, J. (1978). An atlas of air-borne pollen grains and common fungus spores of Canada. Res. Branch Of Canada Dept. of Agriculture. Monograph. No. 18.
16. BERG, T., JOHANSSON, S.G.D. (1971). In vitro diagnosis of atopic allergy. IV. Seasonal variations of IgE antibodies in children allergic to pollen. Int. Arch. Allergy. 41,452.
17. BERNTON, H.S., THOM, C. (1924). The importance of moulds as allergic excitants in some cases of vasomotor rhinitis. J. Allergy, 4,114.
18. BERNTON, H.S. (1930). Asthma due to a mold, Aspergillus fumigatus. JAMA, 95,189.
19. BESSEY, E.A. (1950). Morphology and Taxonomy of Fungi. The Blackiston Co. Philadelphia.
20. BLACKALLER, F.A. (1955). Hongos atmosféricos en la región medio-occidental de la República Mexicana. Alergia. 11,148.
21. BLACKELEY, C. (1873). Experimental research on the causes and nature of Catharrhus nestivus (hay fever or hay asthma). Bailliére, Tindal & Cox. London.
22. BROWN, G.T. (1936). Hipersensitivity to fungi. J. Allergy. 7,455.
23. BROWN, W. (1979). Relationships of respiratory allergy, skin test reactivity and serum IgE in a community population sample. J. Allergy Clin. Immunol. 63,328.
24. BRUUN, E. (1949). Control examination of the specificity of specific desensitization in asthma. Acta Allerg. (Kbh). 2,122.
25. BUTLER, J.M., HANIFIN, J.M. Immunology of atopic dermatitis. In: Current Perspectives in Immunodermatology. Mckie, Ronn. Churchill Livingstone, London.
26. CADHAM, F.T. (1924). Asthma due to grain dusts. JAMA. 83,27.
27. CALVO, M. (1982). Fungal spores in home dust. Ann. Allergy. 49,213.
28. CLARKE, P. (1981). Allergen testing. Med. J. Australia, 2:11.
29. COCA, A.F. COOKE, R.C. (1923). On the classification of the phenomenon of hypersensitiveness. J. Immunol. 8,163.

30. COOKE, R.C. (1980). Fungi, Man and his Environment. Longman, London.
31. COUTINO, B.A. (1979). Importancia de los hongos en las alergias de tipo respiratorio y su estudio en México. Bol. Soc. Mex. Micol. 13,215.
32. CROWLE, A.J. (1961). Immunodiffusion. Academic Press, New York.
33. CUEVA, V.J. (1960). Características del asma bronquial en México. Gac. Med. Mex. 40,197.
34. CUEVA, V.J., HERNANDEZ, E., JUAREZ, X. (1965). Hongos atmosféricos de la Ciudad de Tlalquiltenango, Mor. Rev. Med. Hosp. Gral. (Méx). 28,143.
35. CUEVA, V.J., VENEGAS, C.M., JUAREZ, X. (1967). Hongos contaminantes y alergia en Zamora, Mich. Rev. Fac. Med. 9,159.
36. CURRAN, W.S., GOLDMAN, G. (1961). The incidence of immediate reacting allergy. Skin tests in a "normal" adult population. Ann. Intern. Med. 55,777.
37. CHRISTENSEN, D.M. (1961). The Molds and Man. An Introduction to the Fungi, Univ. Minnesota Press, 2nd. Ed. Minneapolis.
38. DONE, J. (1980). Respiratory allergy to house dust. A comparison between clinical reactions and the results of some diagnostic tests. 54 cases. Nouv. Pres. Med. 44,3335.
39. DUBOIS, M. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Hem. 28,350.
40. EDFORS-LUBS, M.L. (1971). Allergy in 7 000 twin pairs. Acta Allerg. (KbH). 26,249.
41. FAGERBERG, E., WIDE L. (1970). Diagnosis of hypersensitivity to dog epithelium in patients with asthma bronchiale. Int. Arch. Allergy. 39,301.
42. FEIMBERG, S.M., LITTLE, H.T. (1935). Mould allergy. Its importance in asthma and hay fever. Wis. Med. J. 34,254.
43. FEIMBERG, S.M., LITTLE, H.T. (1936). Seasonal hay fever and asthma due to molds. JAMA. 107,1861.
44. FINEMAN, A.H. (1926). Studies on hypersensitivity. 23. Comparative study of the intradermal scratch, and conjunctival test in determining the degree of pollen sensitivity. J. Immunol. 11,456.

45. FLOYER, J. (1726). Violent asthma after visiting a wine cellar. A treatise on asthma. 3rd. Ed. London.
46. GALANT, S.P., BULLOCK, J., FRICK, O.L. (1973). An immunological approach to the diagnosis of food sensitivity. Clin. Allergy. 3,363.
47. GLEICH, G.J. (1977). Measurement of the absolute levels of IgE antibodies in patients with ragweed hay fever. J. Allergy Clin. Immunol. 60,188.
48. GONZALEZ-OCHOA, A., OROZCO, C. (1943). Los hongos del aire en la Ciudad de México. Sus relaciones con los factores atmosféricos. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. 4,259.
49. GRAVENSEN, S. (1979). Fungi as a cause of allergic disease. Allergy, 34,135.
50. HANSEN, I., MYGIND, N. (1974). Local effect of intranasal beclomethasone dipropionate aerosol in perennial rhinitis. Acta Allerg. (Kbh). 29,281.
51. HOFFMAN, D.R., KOZAL, P. (1979). Shared and specific allergens in mold extracts. J. Allergy Clin. Immunol. 63,213.
52. HUGHES, M., MAUNSELL, K. (1973). A study of a population of house dust mite in its natural environment. Clin. Allergy. 3,363.
53. ISHII, A. (1979). Mite fauna and fungal flora in house dust from asthmatic children. Allergy. 34,379.
54. JOHNSTONE, D.F., DOTTON, A. (1968). The value of hyposensitization therapy for bronchial asthma in children. A 14-year study. Pediatrics. 42,793.
55. KATZ, D.H. (1980). Recent studies on the regulation of Ige antibody synthesis in experimental animals and man. Immunology. 41,1.
56. KATZENSTEIN, A. (1983). Allergic Aspergillus sinusitis. A newly recognized form of sinusitis. J. Allergy Clin. Immunol. 72, 89.
57. KOZAK, P. (1979). Factor of importance in determining the prevalence of indoor molds. Ann. Allergy. 43,88.
58. LACEY, J. (1981). The Aerobiology of Conidial Fungi. In: Biology of Conidial Fungi. Vol. I. G.T. Cole and B. Kendrick. Academic Press. New York.

59. LAMPERT, R.P. (1977). Pulmonary and cerebral mycetomas caused by Curvularia pallenscens. J. Pediatr. 91,603.
60. LARONE, H.D. (1986). Medically Important Fungi. A Guide to Identification. Harper and Row Publ., New York.
61. LEVINE, B. (1970). Effect of combinations of inbred strain, antigen and antigen dose on immune responsiveness and reagin production in the mouse. A potential mouse model for immune aspects of atopic allergy. Int. Arch. Allergy. 39: 156.
62. LEVINE, B.B., STEMBERG, R.H., FOTINO, M., (1972). Ragweed hay fever: Genetic control and linkage to HLA haplotypes. Science. 178,1201.
63. LEVINE, B.B. (1976). Genetic factors in atopic allergic diseases. In: Immunologic and Reactions of the Lung. Kirpatrick, C.H. and Reynolds, H.Y. Dekker. New York.
64. LONGBOTTOM, J. L. (1978). Immunological aspects of infection and allergy due to Aspergillus species. Mykosen. Suppl. 1,207.
65. LOPEZ-MARTINEZ, R., GARCIA-MAYNEZ, A.M. (1983). Aislamiento de hongos productores de alergias en mercados de la Ciudad de México. Alergia. 30,103.
66. LOPEZ-MARTINEZ, R., MACOTELA, R.E., MENDEZ-ROMERO, F. (1984). Estudio de hongos atmosféricos en un medio hospitalario. Gac. Med. Mex. 120,387.
67. LOWRY, O.H. (1951). Protein measurements with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193,265.
68. LUSTGRAAF, B., BRONSWISK, J. (1977). Fungi living in house dust. Ann. Allergy, 39,152.
69. MARSH, D.G. (1975). Allergens and the genetics of allergy. In: The Antigens. Vol. 3. M. Sela. Academic Press. New York.
70. MATTHEW, D.J. (1977). Prevention on eczema. Lancet. 1,321.
71. MC. DONALD, M.S. (1980). Aerobiological studies based in Galway. A comparison of pollen and spore counts over two seasons of widely differing weather conditions. Clin. Allergy, 10,211.
72. MENDELSON, G. (1979). Infectious endocarditis during the first decade of life. Am. J. Dis. Child. 133,619.
73. MIDDLETON, E. Jr. (1978). Allergy. Principles and Practice. C.V. Mosby, St. Louis. Mo.

74. MIMS, C.W. (1984). Classification of fungi. In: Mould Allergy. Al-Doory and Domson. J. Lea and Febiger. Philadelphia.
75. MYGIND, N. (1982). Alergia nasal. Salvat. Barcelona.
76. MYGIND, N. (1979). Clinical investigation of allergic rhinitis and allied conditions. Allergy. 34,195.
77. OUCHTERLONY, O. (1962). Diffusion-in-gel-methods for immunological analysis. Progr. Allergy. 6,30.
78. PELIKAN, Z., DE VRIES, K. (1974). Effects of some drugs applied topically to the nasal mucosa before nasal provocation test with allergen. Acta Allerg (Kbh). 29,337.
79. PEPYS, J. (1969). Hypersensitivity diseases of the lungs due to fungi and organic dusts. In: Monographs in allergy, Karger. New York.
80. PETERSEN, P. (1984). Seasonal variation of asthma and allergic rhinitis. Consultation pattern in general practice related to pollen and spore counts and to five indicators of air pollution. Allergy. 39,165.
81. PRESSMAN, D. (1968). The Structural Basis of Antibody Specificity. Benjamin, New York.
82. PRINCE, H.E. SELLE, W.A., MORROW, M.B. (1934). Molds in the etiology of asthma and hay fever. Texas State Med. J., 30,340.
83. PRINCE, H.E., TATGLE, E.G., MORROW, M. (1974). Mold fungi in the etiology of respiratory allergic diseases. V. Further studies with mold extracts. Ann. Allergy. 5,434.
84. REED, C. (1981). Allergic agents. Bull. N.J. Acad. Med. 57,897.
85. REITAMO, S. (1981). Allergic and toxic contact dermatitis. Inflammatory cell subtypes in epicutaneous test reactions. Brit. J. Dermatol. 105,5.
86. RIPPON, J.W. (1982). Medical Mycology. the Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. W.B. Saunders Co. 2nd. Ed. Philadelphia.
87. ROWNTREE, J. (1985). Development of IgE and IgG antibodies to food and inhalant allergens in children at risk of allergic disease. Arch. Dis. Child. 60,272.
88. SALVAGGIO, J. (1981). Mold-induced asthma. J. Allergy Clin. Immunol. 68,327.

89. SELL, S. (1981). Reacciones antígeno-anticuerpo. En: Inmunopatología e Inmunidad, 2a. Ed. Harper and Row Latinoamericana, México.
90. SNELLER, M.R. ROBY, R.R., (1979). Incidence of fungal spores at the homes of allergic patients in an agricultural community. III. Association with local crops. Ann. Allergy. 43,352.
91. SOTOMAYOR, C., MADRID, C. (1959). Hongos del aire de la Ciudad de Hermosillo, Son. Rev. Latam. Microbiol. 2,207.
92. SOOTHILL, J.F. (1973) Immunodeficiency and allergy. Clin Allergy Suppl. 1,21.
93. TALBOT, P.H.B. (1971). Principles of Fungal Taxonomy. St. Martin Press, New York.
94. TAYLOR, G. (1976). Allergy to laboratory animals. Lecture at the Second Charles Blackeley Centenary Symposium, Nottingham.
95. UHR, J.W. (1966). Delayed hypersensitivity. Physiol. Rev. 46,359.
96. ULLOA, M. Y HANLIN K. (1978). Atlas de Micología Básica. Concepto, México.
97. VAN DER WERFF, P.J. (1958). Mould fungi and bronchial asthma. Springfield, Charles C. Thomas. New York.
98. VAN LEEWEN, W.S. (1924). Bronchial asthma in relation to climate. Proc. Soc. Med. 17,19.
99. WELLS, J.V. (1983). Mecanismos Inmunitarios de Daño Tisular. En: Inmunología Básica y Clínica. Stites, D.P. 4a. Ed. El Manual Moderno, México.
100. WHITTAKER, R.H. (1969). New concepts of kingdoms of organisms. Science. 1963,150.
101. WHITTAKER, R.H., MARGULIS, L. (1978). Protists classification and the kingdoms of organisms. Biosystems. 10,3.
102. WIDE, L. (1967). Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. Lancet. 2,1105.
103. YUNGINGER, J.W. (1973). Seasonal changes in IgE-antibodies and their relationship to IgG-antibodies during immunotherapy for ragweed and hay fever. J. Clin. Invest. 52,1268.
104. ZAPATER, R.C. (1981). Micología Médica. El Ateneo, Buenos Aires.