

Colonización por hongos ambientales en el paciente alérgico respiratorio no controlado

Colonization by environmental fungi in the uncontrolled respiratory allergic patient

Mercedes Jiménez Martínez^{1*}

Omar Herrera Barrios²

José Severino Rodríguez Canosa³

Ileana Paneque Rodríguez²

¹Hospital Pediátrico Universitario “William Soler”. La Habana, Cuba.

²Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas (CIMEQ). La Habana, Cuba.

³Hospital Universitario “General Calixto García”. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: mercedezjm@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La presencia de hongos en las vías respiratorias puede provocar en personas susceptibles diversas manifestaciones alérgicas.

Objetivo: Determinar si las especies fúngicas aisladas de la mucosa nasal de pacientes alérgicos respiratorios pueden ser definidas como alérgenos sensibilizantes a través de las pruebas cutáneas.

Métodos: Estudio observacional, prospectivo y de corte transversal, donde el universo estuvo constituido por todos los pacientes con diagnóstico de alergia respiratoria o inicio de asma bronquial variable descompensada, mayores de 2 años y menores de 19, que se asistieron en las consultas de alergia en La Habana, desde enero 2016 a enero 2017. La muestra obtenida fue de 80 pacientes alérgicos respiratorios.

Resultados: Del total de pacientes con clínica de asma, rinitis o ambas, se obtuvieron pruebas cutáneas por el *test* de Prick positivas a hongos en 52 de ellos (65 %) con una polisensibilización en 24 para 46,1 %. La reactividad cruzada de mayor relevancia se produjo con los alérgenos de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*. El cultivo resultó positivo en 54 muestras nasales (67 %). El género de hongos predominante en los pacientes alérgicos fue el *Aspergillus* en 70,3 % y dentro de este el *Aspergillus fumigatus* en 52,6 %.

Conclusiones: El estudio de la micobiota nasal es una prueba que debe interpretarse junto con las pruebas cutáneas para el diagnóstico de enfermedades alérgicas por hongos ambientales y tener en cuenta su importancia para el control epidemiológico en la exposición a hongos.

Palabras clave: alergia; hongos alergénicos; micobiota nasal, *Aspergillus Penicillium*.

ABSTRACT

Introduction: The presence of fungi in the respiratory tract can cause different allergic manifestations in sensitive persons.

Objective: To determine if fungi species isolated from the nasal mucosa of respiratory allergic patients can be defined as allergen-sensitive by means of skin tests.

Methods: Observational, prospective and cross-sectional study, where the overall sample consisted of all patients with a diagnosis of respiratory allergy or onset of decompensated variable bronchial asthma, over 2 years old and under 19 years old who attended to Allergy consultations in Havana, from January 2016 to January 2017. The sample obtained was 80 respiratory allergic patients.

Results: Of the total number of patients with symptoms of clinical asthma, rhinitis or both, Prick's skin tests were obtained by fungal positive test in 52 of them (65 %) with a polysensitization in 24 (46.1 %). The most relevant cross reactivity occurred with the allergens of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Alternaria*. The culture was positive in 54 nasal samples (67 %). The predominant fungal genus in allergic patients was *Aspergillus* in 70.3 % and within this *Aspergillus fumigatus* in 52.6 %.

Conclusions: The study of nasal mycobiota is a test that should be interpreted together with skin tests for the diagnosis of allergic diseases due to environmental fungi and it must be taken into account its importance for epidemiological control in fungal exposure.

Keywords: allergy; allergenic fungi; nasal mycobiota, *Aspergillus Penicillium*.

Recibido: 20/09/2017

Aprobado: 9 /07/2018

INTRODUCCIÓN

La exposición fúngica es un hecho diario de la existencia humana, considerado el primer paso de un complejo mecanismo de respuesta que tiene a la sensibilización como

fenómeno central en el paciente alérgico, y que puede tener como resultado el inicio de una enfermedad.⁽¹⁾

Los hongos ambientales al igual que los ácaros y el polen son considerados como aeroalergenos. Su capacidad para activar el sistema inmune no solo depende de su antigenicidad, sino de factores como el transporte, depósito en las mucosas de la vía aérea superior de un huésped susceptible y el tiempo de exposición a un ambiente predominante de espora.⁽²⁾

La alergia fúngica, con manifestaciones respiratorias, afecta a un gran número de personas que padecen de asma severa y rinitis. Sin embargo, el aislamiento de alguna especie fúngica en la mucosa nasal de un paciente sensibilizado no significa que sea directamente la causa de la alergia respiratoria que padezca.⁽³⁾ Existen otras formas clínicas diferentes⁽⁴⁾ en la presentación de las alergias a los hongos (Fig.1).

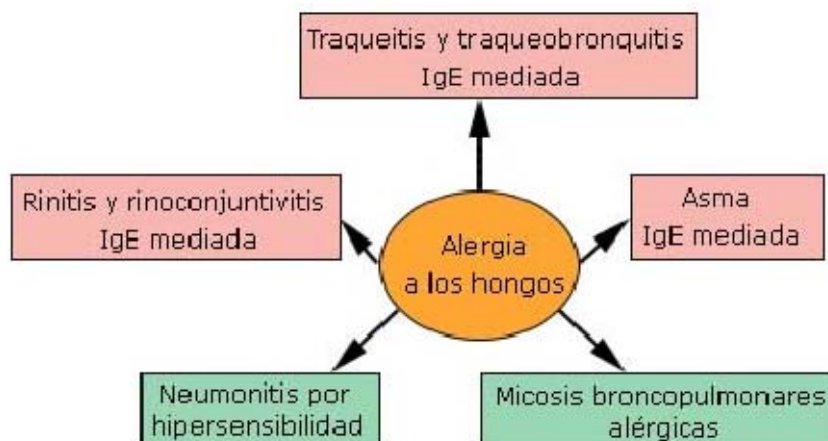


Fig. 1 - Otras formas clínicas de presentación de las alergias a los hongos.

Las manifestaciones clínicas, la determinación de un elevado número de eosinófilos en la citología de la mucosa nasal o la determinación de citosinas IL4 e IL5 en lavados nasales, además de la determinación a través de las pruebas cutáneas (PC) de sensibilidad inmediata (Prick Test) para antígenos fúngicos, son los criterios disponibles para establecer la posible relación causal de los hongos ambientales y la alergia respiratoria.⁽⁵⁾

En la práctica médica, ante el aislamiento de un hongo en la vía respiratoria, es importante definir cuál es la clasificación clínica del paciente hospedero y precisar que se trata de una alergia fúngica si el paciente presenta evidencia de la reacción inflamatoria inmunológicamente mediada ante un hongo y registrar el daño tisular, aun cuando demostrar y documentar el daño del tejido sea difícil a veces.

El objetivo de la investigación realizada fue determinar si las especies fúngicas aisladas de la mucosa nasal de pacientes alérgicos respiratorios pueden ser definidas como alergenosen sensibilizantes a través de las pruebas cutáneas.

MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, de corte transversal, en las consultas de alergia del Hospital Pediátrico Universitario “William Soler”. Hospital CIMEQy el Área de Salud del Consultorio Médico No. 24 del Policlínico Carlos J. Finlay, todos de la provincia Habana. El universo estuvo constituido por todos los pacientes con diagnóstico de alergia respiratoria o comienzo de asma bronquial variable descompensada que asistieron a las consultas de alergia desde enero 2016 a enero 2017 y que cumplieran los siguientes criterios de inclusión: mayor de 2 años y menor de 19 años. Se excluyeron a pacientes que se encontraban febriles o en crisis de agudización de su enfermedad alérgica, con antecedentes conocidos de comorbilidades crónicas cardiovasculares, neoplásicas, pulmonares no alérgicas, con dermatografismos o eccema, tratamientos con antihistamínicos, esteroides e inmunosupresores sistémicos por lo menos tres días antes de las pruebas cutáneas, así como quienes se habían aplicado esteroides locales en los sitios de posibles punciones, al igual, los que tuviesen diámetros del habón > de 3mm en el test control negativo y quienes presentaron pruebas de alergia positivas a uno o más aeroalergenosen perennes de pólenes o ácaros. Quedó una muestra de 80 pacientes.

Las variables estudiadas fueron: edad, sexo, hábitos tóxicos, antecedentes personales, Prick test (sensibilidad cutánea), colonización de la mucosa nasal, conteo global de eosinófilos en sangre, dosificación de IGE sérica total y pruebas funcionales respiratorias. La fuente de información fue a través de la entrevista que se realizó con cada paciente para recoger los datos necesarios los cuales se obtuvieron a través de un formulario elaborado en base a los objetivos que se persiguieron, todas de tipo cerrada.

Se realizaron determinaciones *in vivo*: reactividad cutánea. La prueba se realizó utilizando lancetas hematológicas de acero inoxidable. Se aplicó una gota de cada extracto del alérgeno sobre la superficie de la piel del antebrazo derecho (cara anterior), presionando la lanceta perpendicularmente y con presión constante durante aproximadamente 1 seg a través de la gota. A continuación, se limpió la gota suavemente.

La lectura se realizó a los 15 min y se marcó con una pluma el contorno del habón. Con el objetivo de registrar el resultado de la prueba, los habones dibujados se cubrieron con una cinta adhesiva transparente, que se transfirió a una hoja en blanco con el nombre del paciente y la fecha de realización de la prueba. Dicho registro se archivó en el CRD del paciente. Otras de las pruebas fue el exudado de la mucosa nasal, que para obtenerse mantuvo la cabeza del sujeto inclinada hacia atrás y se introdujo un escobillón estéril en ambas nasas con penetración de hasta un mínimo de 15 min y rotar suavemente para conseguir una muestra representativa. Las muestras se sembraron por agotamiento en placas con medio de agar de Sabouraud con cloranfenicol (bioMérieux SA, Francia) e incubaron a 25 ± 2 °C durante dos semanas. Se observaron diariamente. Para la identificación de los hongos filamentosos se realizaron, en primer lugar, resiembras en medio de agar dextrosa patata (Merck, Alemania), en microscopio siguiendo las claves e identificándose posteriormente mediante examen descritos en textos especializados. Las levaduras aisladas se sembraron en medio Cromocin CND (BIOCEN; La Habana Cuba). La identificación final se obtuvo mediante la prueba de asimilación de azúcares API 20 Caux (Auxacolor, Francia).

Se realizaron otros complementarios de laboratorio como conteo global de eosinófilos e IgE sérica, con el personal preparado y con todas las medidas necesarias.

Para el procesamiento estadístico se utilizó medidas de resumen descriptivas: media, desviación estándar para variables cuantitativas, frecuencia absoluta y porcentaje para las variables cualitativas. Los resultados se procesaron en Windows XP. Se utilizó la prueba estadística de significación chi cuadrada (χ^2) para determinar la diferencia entre los grupos estudiados (reactividad cutánea y exudado de la mucosa nasal), con una confiabilidad de 95 % para un error de muestreo de 5 %.

Se contó con el aval de consentimiento informado que se le presentó a cada paciente para contar con su aprobación por participar en la investigación, se le explicó, además, de modo general a cada uno en qué consistía el estudio.

La metodología a utilizar para la recogida de los datos no produjo ningún riesgo para los pacientes estudiados. Se contó con la aprobación del Consejo Científico del Hospital Pediátrico Docente "William Soler" y se mantuvo en todo momento la confidencialidad de la información recogida.

RESULTADOS

De los 80 pacientes con clínica de asma, rinitis o ambas, se obtuvieron pruebas cutáneas de Prick test positivas a hongos en 52 de ellos para 65,0 %. Se obtuvo el aislamiento del hongo en el cultivo nasal en 54 de los pacientes para 67,0 %, ($p \leq 0,05\%$). La diferencia fue significativa (tabla).

Tabla - Correlación de los síntomas clínicos con las pruebas cutáneas y el crecimiento de los hongos en el cultivo nasal

Método diagnóstico	No.	%
Pacientes con síntomas clínicos (+)	80	100,0
Pruebas cutáneas (+) hongos	52	65,0
Polisensibilizados	24	46,1
Monosensibilizados	28	53,9
Crecimiento de hongos (+) exudado	54	67,0

Polisensibilizados: más de un hongo; monosensibilizados: solo un hongo específico.

Se identificaron 18 especies diferentes, pertenecientes a 15 géneros. El hongo más frecuente en pacientes alérgicos fue *Aspergillus* con 70,30 % y dentro de este el *Aspergillus fumigatus* (52,6 %) (Fig. 2).

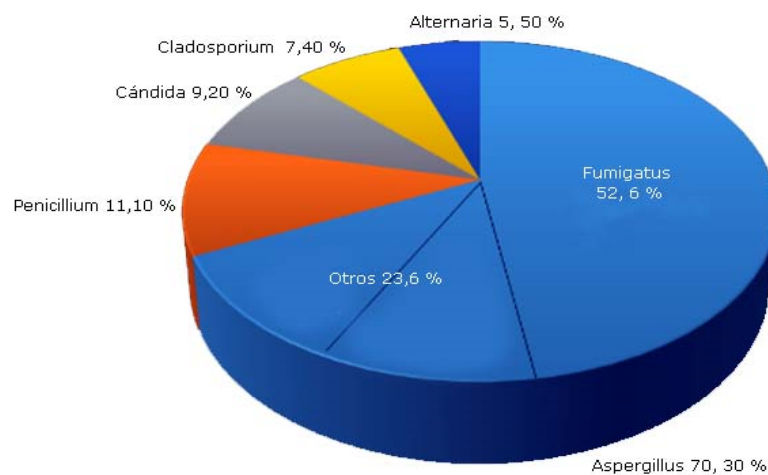


Fig. 2 - Especies identificadas.

DISCUSIÓN

Los hongos más frecuentemente involucrados en la rinosinusitis y asma son *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cándida*, *Mucor*, *Penicillium* y *Cladosporium*, particularmente *A. Alternata* y *C. herbarum* constituyen factores de riesgo para el asma severa. Existen estudios que demuestran la asociación entre el aumento de los niveles atmosféricos de esporas fúngicas y el incremento de asistencia de niños con asma a servicios de urgencias. Estas esporas son, en parte, responsables de las exacerbaciones del asma infantil. También se ha demostrado que durante los meses en los que el número de hongos ambientales es más alto se incrementan los ingresos por asma.⁽⁶⁾

Los hongos que se encuentran en la mucosa liberan productos antigénicos que en sujetos atópicos pueden causar sensibilización y determinar el desarrollo de rinitis e, incluso, asma alérgica. De ahí el interés por conocer la flora fúngica nasal en sujetos alérgicos y normales.

Los hongos ambientales poseen una importante capacidad alergénica y en sujetos atópicos pueden provocar asma y rinitis. Se plantea que aproximadamente el 5% de la población puede presentar síntomas de alergia a hongos a lo largo de su vida, de ahí la importancia de conocer cuáles son los alérgenos sensibilizantes, establecer la relación entre la exposición y la posibilidad de desarrollar un proceso alérgico.^(7,8,9)

En un estudio realizado en Cuba en ambiente atmosférico de La Habana se encontró que el género viable más abundante y frecuente fue *Cladosporium*, seguido de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Fusarium* y *Alternaria*. Mientras que en ambientes interiores los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium* fueron los más abundantes en cuanto a unidades formadoras de colonias. Estos estudios que se realizan en nuestro país revisten especial importancia para la interpretación de los resultados obtenidos, permiten comparar con la realidad obtenida. Encontramos coincidencia en cuanto al género encontrado *Aspergillus*, esto demuestra la posible exposición de los pacientes a ambientes con altas concentraciones de esporas fúngicas o por tiempo prolongado que culmina con la colonización de la nariz.⁽¹⁰⁾

Un estudio cubano de evaluación de la sensibilización a hongos en escolares con enfermedades atópicas, encontró *Penicillium* como el hongo que mostró más sensibilizaciones, lo que se comportó de una manera desigual con respecto a los estudios antes presentados por otros autores que realizaron estudios similares en México, lo cual explicaría las diferencias en cuanto a la variabilidad de hongos que puede existir en ambos

países. En el trabajo se encontró sensibilización a *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*, en ese orden que fue más frecuente que el resto de los alérgenos empleados y que al comparar con este trabajo, difiere en los resultados.⁽¹¹⁾

Estudios similares fueron realizados por *Fukutomi* y *Taniguchi*⁽¹²⁾ para comparar la presencia de hongos ambientales y la sensibilización en niños alérgicos mediante la determinación de IgE específica.

La puerta de entrada nasal para las esporas fúngicas debería reflejar la flora atmosférica dominante. Si se inhalan los hongos, quedan atrapados en las fimbrias de la nariz y se ponen así en contacto directo con la mucosa nasal. En pacientes alérgicos el factor mecánico del uso de pañuelos para la rinitis puede influir en el arrastre de las partículas de hongos inhalados. En el presente estudio los hongos aislados coincidieron con los géneros encontrados en mayor proporción por *Rojas* y otros,⁽¹³⁾ en estudios en ambientes externos e internos, lo cual refleja la microbiota ambiental existente en los sitios de mayor exposición. A pesar de que en este estudio se identificaron un total de 15 géneros diferentes, los hongos aislados con más frecuencia en orden decreciente fueron *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Cándida*, que se encuentran entre los que más frecuentemente producen alergias respiratorias.

Los datos comunicados por la Nova Acta Científica Compostela,⁽¹⁴⁾ señala que las esporas predominantes en exteriores de la ciudad de La Habana durante 2010 a octubre 2012, correspondieron en género más abundante y frecuente a *Cladosporium*, seguido de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Fusarium* y *Alternaria*; *Aspergillus* y *Penicillium* predominaron durante la estación lluviosa (mayo-octubre) de 2010 y 2011, respectivamente.

Las concentraciones de *Alternaria* y *Fusarium*, fueron superiores, con máximos mensuales en abril y febrero, hechos que demuestran que las condiciones climáticas determinan la variabilidad y concentración atmosférica de hongos anemófilos, que pueden determinar la aparición temporal de alergia en pacientes atópicos, aunque no se tomaron estas variables para el estudio.⁽¹⁵⁾

Contrasta el hecho de que la mayoría de las alergias respiratorias registradas son por *Alternaria* y que esta solo se aisló en este estudio en tres muestras de sujetos alérgicos (1%). La mayoría de los pacientes alérgicos a hongos no eran portadores de esta en su microbiota nasal, incluso, en algunos casos, se cultivó una especie fúngica distinta a aquella a la que los pacientes estaban sensibilizados.

Este hecho sugiere que no existe una relación directa entre los hongos de la mucosa nasal y la sensibilización a una determinada especie. Situación que podría ser variable según el momento en que se toma la muestra; el arrastre provocado por el uso de pañuelos para la rinitis y el fenómeno de la reactividad cruzada, Por lo tanto, el seguimiento con cultivos seriados en un mismo sujeto a lo largo del año podría proporcionar una información valiosa sobre estas variaciones.

A partir de este análisis se define que es necesario para establecer un diagnóstico de certeza, contar con una adecuada historia clínica del paciente a quien se le practique las pruebas actuales (*in vivo* e *in vitro*) para determinar sensibilización fúngica aun cuando no están exentas de limitaciones.

Las discordancias entre los resultados hallados de pruebas practicadas deben ser llevadas a la consideración clínica.

En Cuba donde el asma afecta el 9,8 %⁽¹⁶⁾ de la población general, no se cuenta con estudios de identificación de especies fúngicas de microbiota nasal de pacientes alérgicos respiratorios, y su relación con las pruebas cutáneas.

No contar con extractos estandarizados para las pruebas de sensibilización cutánea, ni determinaciones de Inmunoglobulina E específica en la práctica habitual de los laboratorios de los centros asistenciales, forman parte importante de las limitaciones antes señaladas.

Se concluye que el estudio de la microbiota nasal es una prueba que debe interpretarse, junto con las pruebas cutáneas, para el diagnóstico de enfermedades alérgicas por hongo ambiental dado su importancia para el control epidemiológico de la exposición frecuente a hongos, en espacios interiores y exteriores, en los pacientes. Recomendamos hacer extensivo este estudio a otras provincias del país para un mejor diagnóstico y tratamiento.

Agradecimientos

A: Dra. *Nirtza E Suarez Navarro*. Especialista de I Grado en Microbiología. Máster en Microbiología. Hospital Pediátrico Universitario “William Soler”.

Lic. *Yolanda Martínez Ayala*. Licenciada en Microbiología. Hospital Pediátrico Universitario “William Soler”.

Tec. *Lisandra Linares Luna*. Tec, en Inmunoalergia. Hospital Pediátrico Universitario “William Soler”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ragab A, Clement P, Vincken W, Nolard N, Simones F. Fungal cultures of different parts of the upper and lower airways in chronic rhinosinusitis. *Rhinology*. 2016;44:19-25.
2. Rodrigues J, Caruthers C, Azmeh R, Dykewicz MS, Slavin RG, Knutsen AP. The spectrum of allergic fungal diseases of the upper and lower airways. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016;12(5):531-50.
3. Portnoy JM, Williams PB, Barnes CS. Innate Immune Responses to Fungal Allergens. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2016;16(9):62.
4. Fishwick D. New occupational and environmental causes of asthma and extrinsic allergic alveolitis. *Clin Chest Med*. 2012;33:605-16.
5. Patterson K, Strek ME. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Proc Am Thorac Soc*. 2014;7:237-44.
6. Hoyt AE, Borish L, Gurrola J, Payne S. Allergic Fungal Rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(4):599-604.
7. Twaroch TE, Curin M, Valenta R, Swoboda I. Mold allergens in respiratory allergy: from structure to therapy. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2015;7(3):205-20.
8. Fokkens W y Cols European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinology*. 2013;45(suppl. 20):1-139.
9. Denning DW, Pleuvry A, Cole DC. Global burden of Allergic bronchopulmonary aspergillosis with asthma and its complication chronic pulmonary aspergillosis in adults. *Med Micol*. 2014;51:361-70.
10. Venero Fernández Silvia Josefina, Varona Pérez Patricia, Fabret Ortiz Dania, Suárez Medina Ramón, Bonet Gorbea Mariano, Molina Esquivel Enrique et al. Asma bronquial y rinitis en escolares de Ciudad de La Habana (2001 a 2002). *Rev Cubana Hig Epidemiol* 2009;47(1). Acceso: 28/10/2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032009000100005&lng=es.
11. Díaz Rodríguez A, Fabré Ortiz DE, Coutin Marie G, González Méndez T. La sensibilización a hongos ambientales y su relación con enfermedades atópicas en escolares. *Rev Cubana Med Gen Integr*. 2010;26(4):647-55. Acceso: 13/10/2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252010000400007&lng=es

12. Fukutomi Y, Taniguchi M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. *AllergolInt.* 2015;64(4):321-31.
13. Rojas TI, Martínez E, Aíra MJ, Almaguer M. Aeromicota de ambientes internos: Comparación de métodos de muestreo. *Bol Micol.*2008; 23:67-73.
14. Oliveira M, Caramalho R. *Aspergillus fumigatus*: a mere airborne particle or a powerful biohazard? *Nova Acta Científica Compostelana (Biología).* 2014;(21):57-64.
15. Sellart-Altisent M, Torres-Rodríguez JM, Gómez de Ana S, Alvarado-Ramírez E. Microbiota fúngica nasal en sujetos alérgicos y sanos *Rev Iber Micol.* 2017;24:125-30.
16. Ministerio de Salud Pública. Anuario estadístico de salud. Cuba. La Habana: Ministerio; 2014.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en la realización del estudio.