

Análisis de las reacciones de hipersensibilidad tipo I a los basidiomicetes en una población alérgica costarricense, durante 2009

Analysis of the reactions of type I hypersensitivity to the Basidiomycetes in a Costa Rican allergic population during 2009

Daniela Jaikel-Viquez^{1,2} y Olman Riggioni-Cordero²

Resumen

Justificación y objetivos: Costa Rica es un país tropical en donde se ha encontrado una alta concentración de basidiosporas aéreas, las cuales miden alrededor de 4-13µm de diámetro, y son por definición aerobiológicas, capaces de penetrar a tracto respiratorio inferior, irrespetando la barrera nasal. El presente estudio tiene como objetivos encontrar posibles fuentes de contaminación ambiental por basidiomicetes y determinar si en Costa Rica sería necesario analizar, de forma rutinaria, la reactividad por alérgenos a basidiomicetes en la población portadora de enfermedad rinobronquial alérgica.

Métodos: se determinó el porcentaje de pacientes alérgicos a los extractos de basidiomicetes, tipo carbón *Sporisorium cruentum* y *Ustilago cynodontis* y tipo roya *Puccinia graminis* subsp. *graminis*. A la vez, se recolectaron panículas de *Panicum maximum* para evaluar su contaminación por basidiomicetes.

Resultados: se encontró que el 59,23% de los pacientes eran alérgicos a hongos y que el tipo de hongo al que más pacientes presentaron alergia fueron los basidiomicetes. El 100% de las panículas recolectadas estaban contaminadas con un hongo del género *Ustilago*.

Conclusión: se recomienda el testeo continuo por basidiomicetes, ya que estos son los hongos a los que la mayoría de los pacientes estudiados presentó alergia.

Descriptores: Basidiomicetes, alergia, hongos, *Ustilago*

Abstract

Background and aim: Costa Rica is a tropical country in which a high concentration of aerial basidiospores has been found, which measure between 4-13 µm and are capable of arriving to the lower respiratory system, surpassing the nasal barrier. This study aims to find possible sources of environmental contamination by basidiomycetes and to determine if it is necessary to routinely analyze this allergen in the Costa Rican population that suffer from rhino bronchial allergy.

Methods: The percentage of patients allergic to the extracts of basidiomycetes, specifically smuts like *Sporisorium cruentum* and *Ustilago cynodontis* and rusts *Puccinia graminis* subsp. *graminis* was determined. Also, we collected panicles of *Panicum maximum* to assess their contamination by basidiomycetes.

Results: We found that 59.23% of patients were allergic to mushrooms and that the fungi type for which more patients had allergy is the basidiomycetes. At the same time, a 100% of the collected panicles were contaminated with a fungus of the genus *Ustilago*.

¹Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. ²Centro de Diagnóstico y Tratamiento de Alergias.

Fuentes de apoyo: el trabajo se realizó con el apoyo del Centro de Diagnóstico y de Tratamiento de Alergias

Correspondencia:
rivilab@hotmail.com

Conclusion: Most of the patients studied were allergic to basidiomycetes, therefore, we strongly recommend that Costa Rican allergists constantly test for these extracts.

Keywords: Basidiomycetes, allergy, fungi, *Ustilago*

Fecha recibido: 20 de junio de 2011

Fecha aceptado: 06 de agosto de 2012

En el país se han realizado diversos estudios sobre la identificación de las distintas especies de basidiomicetes, con base en la búsqueda de productores de basidiocarpos, en zonas como Monteverde y el volcán Poás.¹⁻³ Sin embargo, en el Valle Central no se suele observar una concentración amplia de basidiocarpos que justifique el alto índice de basidiosporas (23% del total de esporas fúngicas aéreas); Jaikel, *et al.*, tesis de grado para optar por el título de licenciatura en Microbiología y Química Clínica de la UCR) en el medio ambiente, lo que hace suponer que los basidiomicetes más importantes en esta zona son los hongos tipo roya o los tipo carbón, los cuales parasitan diversas plantas, pero no producen basidiocarpo.⁵⁻⁸ Un ejemplo de esto se encuentra en las gramíneas como el *Panicum maximum* (guinea), el cual se encuentra en grandes extensiones del país, tanto en el Valle Central como fuera de este,⁹ y se observa que su panícula es colonizada por un hongo de esporas pigmentadas.

En 1951, se reportó por primera vez la relación existente entre las basidiosporas y los síntomas respiratorios,¹⁰ ya que son conocidos como alérgenos de inhalación y de contacto que causan asma bronquial, tos crónica, neumonitis por hipersensibilidad, dermatitis por contacto¹¹⁻¹³ e incluso cuadros de anafilaxia.¹⁵ Pero, no solo las esporas son causantes de cuadros alérgicos: estudios con el *Pleurotus ostreatus* y con el *Coprinus quadrididus*, demostraron que los extractos a partir del estípite y del píleo contienen alérgenos en cantidades aproximadamente iguales o superiores a los presentes en los extractos de las esporas.¹⁰

El empleo de granjas en el interior de edificios, especializadas para el cultivo de setas comestibles, se ha popularizado en Japón, Norteamérica y Europa, debido a su gran éxito. Lamentablemente, durante la cosecha millones de esporas son liberadas al medio ambiente y provocan la llamada "niebla de esporas", la cual puede obstruir la visibilidad en estos cuartos. Lo anterior es la causa principal de que en un estudio realizado con trabajadores que cultivan *Hypsizigus marmoreus* (Bunashimeji), hasta un tercio presentó cuadros de tos crónica, luego de pocos meses de haber empezado a laborar, y 3 años después, hasta el 90% de los trabajadores presentó precipitinas positivas en su suero a las esporas fúngicas, el 40% abandonó la granja por enfermedad alérgica respiratoria grave y un 5% desarrolló neumonitis por hipersensibilidad.¹⁵

Con respecto a la respuesta inmune, los macrófagos/monocitos, las células NK y las células NK T, son cruciales en la respuesta inmune innata que monta el hospedero contra estos patógenos y los linfocitos T durante la adaptativa. Dado que las esporas de los basidiomicetes están compuestas por complejos proteicos y lipídicos, se cree que interviene el CD1 en su reconocimiento. El CD1b es un importante marcador

de los monocitos y las células dendríticas activadas, además, se ha demostrado que presenta glicolípidos de la pared celular exterior de *Mycobacterium tuberculosis* a las células T no convencionales, como las doble negativo $\alpha\beta T$ y/o $\gamma\delta T$. Por otro lado, el CD1d reconoce y se une a glicolípidos internos y externos, estimulando las células NK. Finalmente, se ha demostrado que en estos pacientes se produce un aumento de la IL-13, una disminución del IFN- γ , un aumento de linfocitos Th2 y de la relación Th2/Th1.¹⁵

La IL-13 desempeña un papel importante en el desarrollo de la hiperreactividad de las vías respiratorias y en el cambio de isotipo hacia la producción de IgE por parte de los linfocitos B, al igual que la IL-4. Además, induce un fenotipo asmático independiente de los linfocitos, lo que sugiere que actúa, por lo menos en ratones, de manera directa sobre las células no inmunes del tejido bronquial. Lo anterior permite inferir que el asma, en los trabajadores de las granjas de setas, puede ser causada por una inflamación mediada por citoquinas de tipo Th2, especialmente por la IL-13.¹⁵ Los basidiomicetes son capaces de inducir, con el aumento de la IL-13, la estimulación de la cascada de la inflamación de tipo alérgico y la baja en los niveles del IFN- γ , que de por sí es deficiente en la población atópica, por un defecto no bien entendido hasta el momento.¹⁶⁻¹⁸

A pesar de la importancia de los basidiomicetes en la salud pública, son muy pocos o casi ninguno los centros de salud, tanto en Costa Rica como en el resto de Centroamérica, que han incorporado los extractos de basidiomicetes en sus juegos de reactivos para el diagnóstico de enfermedades de hipersensibilidad inmediata, y solo se testea por ascomicetes o zigomicetes. Es gracias a lo anterior, que este trabajo tiene como objetivo analizar las reacciones de hipersensibilidad tipo I a los basidiomicetes en una población alérgica costarricense, de enero a diciembre de 2009.

El primer estudio aerobiológico realizado en Costa Rica, que logró demostrar la importancia de los basidiomicetes en las muestras aéreas de las escuelas de la provincia de Heredia, se efectuó en 2008 (Jaikel, *et al.*, Tesis de grado para optar por el título de licenciatura en Microbiología y Química Clínica de la UCR), y alertó acerca de la carencia de investigaciones a nivel nacional y centroamericano sobre este tipo de alérgenos.

Este es el primer estudio desarrollado en el país, que pretende demostrar las posibles fuentes de contaminación ambiental responsables de la alta concentración de basidiosporas aéreas y valorar el análisis rutinario con extractos de diferentes basidiomicetes, en la evaluación del paciente alérgico.

Materiales y métodos

Población estudiada: se realizó un estudio retrospectivo de los expedientes de la Sección de Alergología de la Clínica Médica Herediana, entre enero y diciembre de 2009. Se estudió a 130 pacientes atópicos procedentes de distintas regiones del país: 81 de sexo femenino y 49 de sexo masculino, con un rango de edades de 6 a 86 años (promedio de 35,5 años).

Primero, se determinó el porcentaje de pacientes alérgicos a los extractos de basidiomicetes: tipo carbón *Sporisorium cruentum* y *Ustilago cynodontis* y tipo roya *Puccinia graminis subsp. graminis*, como un total, relacionando los datos obtenidos de las pruebas de prick positivas por estos hongos, durante 2009, con el total de pacientes de la Clínica Médica Herediana durante ese mismo año. Luego, se obtuvo de este porcentaje el correspondiente a los pacientes alérgicos a los hongos tipo roya y tipo carbón, por separado, para evaluar cuál es el más importante.

Como parte del protocolo de la Clínica, se utiliza cuatro mezclas de hongos para el testeo de ascomicetes, zigomicetes y hongos imperfectos, a saber:

- Mezcla de hongos A o mezcla de *Aspergillus* spp.: *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus* spp.
- Mezcla de hongos B o mezcla de hongos hialinos distintos de *Aspergillus*: *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. y *Trichophyton rubrum*.
- Mezcla de hongos C o mezcla de hongos fuliginosos: *Alternaria* sp., *Cladophialophora* (*Cladosporium*) *carrioni*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium* sp. y *Curvularia* sp.
- Mezcla de hongos D o mezcla de hongos levaduriformes: *Candida albicans* y *Rhodotulura rubra*.

Se recolectaron los datos concernientes al porcentaje de pacientes alérgicos a cada una de estas mezclas fúngicas y las manifestaciones clínicas asociadas a tales pacientes. Los datos sobre sexo, edad y lugar de residencia, se analizaron para buscar posibles relaciones demográficas con respecto a los pacientes alérgicos a los basidiomicetes. De seguido, se determinó los porcentajes de cada enfermedad con respecto al total de personas alérgicas a estos extractos. Sin embargo, debido a que los pacientes de la Clínica Médica Herediana son, en su mayoría, atópicos, la información obtenida sobre las distintas manifestaciones se analizó de forma integral junto con los agentes ambientales principales causantes de alergias: ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Tyrophagus putrescentiae* y *Blomia tropicalis*) y pólenes de gramíneas, ya que en Costa Rica la polisensibilización es la regla, y no la excepción, en la población alérgica.

Se utilizó la prueba de chi cuadrado para determinar la asociación de variables entre los distintos tipos de hongos y las manifestaciones clínicas.

El Comité de Bioética de la Universidad de Costa Rica aprobó el protocolo de investigación (sesión No. 206, Doc. VI-8897-2010), pues se encontraba dentro de los principios éticos y humanos de investigación. El Centro de Diagnóstico y Tratamiento de Alergias aprobó la revisión de los expedientes clínicos de estas pruebas.

Colecta de las panículas de *Panicum maximum* contaminadas con basidiomicetes: se realizó un trabajo de campo para buscar contaminación por basidiomicetes en la provincia de Heredia, Costa Rica.

La planta escogida fue la gramínea *Panicum maximum*, la cual se distribuye como follaje salvaje a la orilla de las carreteras, hasta a 1100 metros sobre el nivel del mar, en especial entre mayo y noviembre.¹⁹ La recolección se llevó a cabo en los cantones Central (distrito Mercedes), Barva y San Pablo. Las plantas se cortaron a nivel del tallo y se colocaron en bolsas plásticas individuales y rotuladas. Se recolectó un total de 23 panículas, las cuales se analizaron bajo el estereoscopio de luz. A las esporas de basidiomicetes encontradas se les realizó un montaje húmedo con azul de lactofenol, con el cual se identificó el género al que pertenecían.

El polen contaminado se sembró en botellas de vidrio con 25 mL de Agar de Sabouraud glucosado, y se almacenó a temperatura ambiente durante un mes.

Preparación del extracto de basidiomicetes aislados del *Panicum maximum* para pruebas cutáneas: el material obtenido del cultivo en Agar de Sabouraud glucosado se lavó tres veces con acetona, para eliminar los lípidos, y luego las estructuras fúngicas se preservaron con nitrógeno líquido.

Se extrajo el material alergénico en solución tampón salina fenolada al 0,4% (solución de Evans), con agitación continua por 48 horas a 4°C, a una concentración peso/volumen (P/V) de 1/10. Se centrifugó a 3500 rpm por 30 minutos. Se separó el líquido sobrenadante y se filtró en estéril por membrana milliporo de 0,22 micrómetros.

Estandarización del extracto para pruebas cutáneas: se realizó una estandarización *in vitro*, en la cual se especificó la cantidad de proteínas totales, mediante el método de Dumas, para el extracto crudo obtenido del basidiomicete aislado de la panícula de *Panicum maximum* y para los tres extractos de basidiomicetes de la casa comercial GREER (*Sporisorium cruentum*, *Ustilago cynodontis* y *Puccinia graminis subsp. graminis*). Los cuatro extractos se encuentran a una concentración de 1/10 P/V. Con base en los resultados, se determinó la concentración a la cual se puede utilizar el extracto.

Resultados

Como se observa en el Cuadro 1, de los pacientes estudiados, el 59,23% son alérgicos a hongos, siendo los basidiomicetes un 40,77%, las levaduras un 30,77%, los hongos hialinos distintos

Cuadro 1: Porcentaje de los pacientes alérgicos a hongos, atendidos en la CMH, enero a diciembre de 2009			
Tipo de hongo	Cantidad de pacientes alérgicos	% de pacientes alérgicos con respecto al total	% de pacientes alérgicos con respecto al total de alérgicos a basidiomicetes
Cualquier hongo*	77	59,23	No aplica
<i>Aspergillus</i> spp.	17	13,08	No aplica
Hongos hialinos diferentes de <i>Aspergillus</i> spp.	35	26,92	No aplica
Hongos fuliginosos	17	13,08	No aplica
Hongos levaduriformes	40	30,77	No aplica
Basidiomicetes en general	53	40,77	100,00
Basidiomicetes tipo carbón**	27	20,80	50,94
Basidiomicete tipo carbón: <i>Ustilago cynodontis</i>	21	16,15	39,62
Basidiomicete tipo carbón: <i>Sporisorium cruentum</i>	19	14,62	35,85
Basidiomicetes tipo roya: <i>Puccinia graminis</i> subsp. <i>graminis</i>	42	32,31	79,25
Solo basidiomicetes	25	19,23	47,17
Hongos distintos a basidiomicetes	24	18,46	No aplica

*Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycetes y hongo imperfecto
 **Cualquier combinación de hongos tipo carbón

de *Aspergillus* spp. un 26,92%, y los *Aspergillus* spp. y hongos fuliginosos, ambos, un 13,08%. De la misma forma, en el grupo de hongos más importante, que es el de los basidiomicetes, el 79,25% corresponde a alergia contra el hongo tipo roya *Puccinia graminis* subsp. *graminis*, y el 50,94% contra el tipo carbón.

Según el análisis de los datos demográficos (cuadros 2, 3 y 4), cabe resaltar que no se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de pacientes alérgicos a basidiomicetes del sexo femenino, con respecto a los del sexo masculino, ni entre los grupos etéreos, haciendo la salvedad de que se observó una disminución de positividad a la prueba de prick en la población mayor de 40 años, con respecto a la menor de esa edad. No fue posible realizar el análisis por provincias, ya que la cantidad de pacientes no fue suficiente en ninguna de ellas para asignarle valor estadístico.

En el Cuadro 5 se presenta la distribución de estos pacientes alérgicos, según diagnóstico. Los principales cuadros clínicos asociados a los pacientes de la Clínica Médica Herediana, alérgicos a basidiomicetes, fueron: rinitis y conjuntivitis y rinitis, conjuntivitis y asma bronquial. No se encontró ningún paciente cuyo diagnóstico fuera exclusivo de asma bronquial o de dermatitis atópica. A la vez, el 88,68%

de los pacientes alérgicos a cualquier basidiomicete es alérgico a los ácaros del polvo doméstico y de almacenamiento, y el 81,13%, a los pólenes de gramíneas, como corresponde a la regla de polisensibilización del costarricense atópico.

Al realizar la prueba de chi cuadrado a las variables alergia por *Aspergillus* spp. contra diagnóstico de asma bronquial, se obtuvo que estas dos variables son dependientes, no así con los otros tipos de hongos y esta enfermedad (Cuadro 6).

Finalmente, el 100% de las panículas poseían contaminación fúngica (caracterizada por manchas negruzcas) en al menos 25 de sus inflorescencias (Figura 1), identificándose el hongo aislado como un basidiomicete tipo carbón perteneciente al género *Ustilago* (Cuadro 7).

Discusión

Los resultados demuestran que los basidiomicetes corresponden a un grupo de importancia como alergenos, debido a que son causantes de reacciones atópicas en el

Cuadro 2: Distribución, según sexo y positividad, a la prueba de prick, de los pacientes alérgicos a los basidiomicetes, en la población alérgica atendidos en la CMH, enero a diciembre de 2009

Pacientes	Cantidad	% de positividad
Total general*	130	40,77
Masculinos	49	40,82
Femeninos	81	40,74

* Cualquier combinación diagnóstica

Cuadro 3: Relación de edad y positividad de la prueba de prick para basidiomicetes, en los pacientes atendidos en la CMH, enero a diciembre de 2009

Edad (años)	Cant. de pacientes	% de positividad
0-12	11	45,45
13-40	72	45,83
> 40	47	31,91
Total	130	40,77

Cuadro 4: Distribución, por provincia, de los pacientes alérgicos a los basidiomicetes, atendidos en la CMH, enero a diciembre de 2009

Provincia	Cant. pacientes
Alajuela	13
Cartago	11
Guanacaste	6
Heredia	30
Limón	1
Puntarenas	5
San José	64

40,77% de los pacientes analizados, y que el 59,23% de los pacientes alérgicos a hongos son alérgicos a ellos. A su vez, lo que resulta más importante es que el 19,23% de los pacientes son únicamente alérgicos a estos hongos, por lo que pueden ser subdiagnosticados en su patología alérgica, si no se testea rutinariamente con los alérgenos de basidiomicetes. En vista de los resultados, se recomienda utilizar estos hongos como parte de la rutina en pacientes sintomáticos con pruebas cutáneas negativas. Es preciso resaltar que el principal tipo de estos hongos causantes de alergia son los tipo roya, por lo que

Cuadro 5: Distribución de pacientes alérgicos a los basidiomicetes, atendidos en la CMH, según diagnóstico, enero a diciembre de 2009

Diagnóstico	Cant. pacientes	% positividad
Solo rinitis (R)	2	3,77
Solo conjuntivitis (C)	1	1,89
R + C	21	39,62
R + A*	1	1,89
R + D**	4	7,55
R + A + C	20	37,74
R + C + D	2	3,77
R + A + C + D	2	3,77

*A, asma bronquial
**D, dermatitis atópica

debe encontrarse la fuente de esta sensibilización. Además, se reporta un potencial alergénico mayor, debido a que posee unas 6 veces más proteína que los tipo carbón.

No se observó ninguna variación en el porcentaje de seropositividad obtenido a los alérgenos estudiados según el sexo. De la misma forma, no se observa vínculo entre los grupos etarios de 0 a 12 años y los de 13 a 40 años, pero sí entre ellos y el grupo de mayores de 40 años, lo que puede obedecer a una reactividad menor de tipo I en esta población,

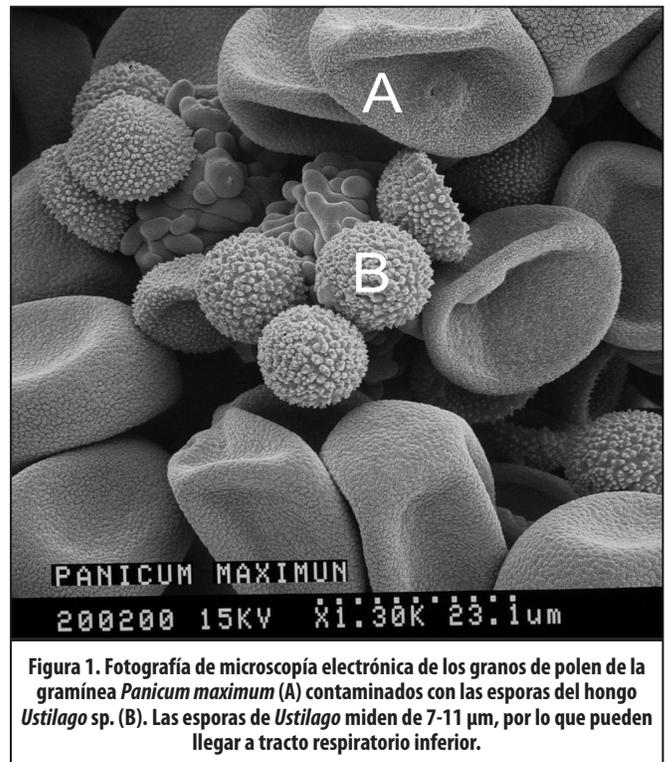


Figura 1. Fotografía de microscopía electrónica de los granos de polen de la gramínea *Panicum maximum* (A) contaminados con las esporas del hongo *Ustilago* sp. (B). Las esporas de *Ustilago* miden de 7-11 μ m, por lo que pueden llegar a tracto respiratorio inferior.

Cuadro 6: Porcentaje de los pacientes alérgicos a los distintos tipos de hongos, atendidos en la CMH, según diagnóstico de asma bronquial, enero a diciembre de 2009

Tipo de hongo	Total de pacientes	Cant. de pacientes con asma bronquial	Porcentaje (%)
<i>Aspergillus</i> spp.	17	11	64.70
Hongos hialinos diferentes <i>Aspergillus</i> spp	35	16	45.71
Hongos fuliginosos	17	7	41.18
Hongos levaduriformes	40	21	52.50
Basidiomicete	53	23	43.40

ya que se describe que la mayor actividad alérgica se produce en los niños y los jóvenes. Este fenómeno también es reportado para los recién nacidos e infantes, sin embargo, en la población estudiada el paciente de menor edad tenía 6 años.²⁰

Con respecto a la sintomatología causada por los basidiomicetes y por los hongos en general, en la bibliografía se reporta que son causantes de asma bronquial,¹⁴ pero, en la población estudiada este no fue el caso, ya que no se encontró relación de dependencia entre las variables. Solo se halló asociación con este diagnóstico en pacientes alérgicos a *Aspergillus* spp., lo cual obedece a que sus esporas poseen un tamaño de 2 µm o menos, por lo que pueden llegar hasta los alvéolos pulmonares. Esto no sucede con los basidiomicetes, ya que sus esporas, aunque pequeñas, tienen un tamaño superior a los 4 µm.^{11, 21}

En su mayoría, los pacientes alérgicos a basidiomicetes fueron diagnosticados con cuadros de rinitis alérgica y conjuntivitis alérgica y de rinitis alérgica, asma bronquial y conjuntivitis alérgica, pero no se encontró asociación estadísticamente significativa con ninguna patología en particular. Esto obedece a que la población alérgica de los países tropicales es una población con sensibilidad a muchos alérgenos distintos, entre ellos la alergia a ácaros del polvo doméstico y

de almacenamiento, y al polen de gramíneas, por lo que no es de sorprender que el 88,68% de los pacientes alérgicos a basidiomicetes sea alérgico a ácaros, y el 81,13%, a pólenes.

Las panículas de *Panicum maximum* recolectadas estaban en su totalidad colonizadas por el hongo tipo carbón identificado como *Ustilago* sp., lo que demuestra que estas plantas son una importante fuente de alérgenos fúngicos perennes en el ambiente, y al dispersarse a nivel aéreo,⁷ entran en contacto con el paciente alérgico de manera muy fácil. Como ya se mencionó, casi el 80% de los pacientes alérgicos a basidiomicetes es alérgico a los hongos tipo roya, por lo que se propone como continuación del presente estudio, localizar los focos de contaminación fúngica por royas, tomando como partida los cafetales, los cuales suelen ser colonizados con la roya del café: *Hemileia vastatrix*.

Conforme evoluciona la química médica, se ha logrado preparar y sintetizar materiales activos de composición exactamente conocida, que pueden administrarse en cantidades precisas y con confianza en la reproducibilidad de los efectos de los distintos fármacos empleados. Sin embargo, los extractos alérgicos continúan siendo la excepción a esta tendencia. Por esto, el propósito de la estandarización de alérgenos es poner a disposición de los alergólogos, extractos con concentraciones conocidas de alérgenos para el diagnóstico y la inmunoterapia de las enfermedades alérgicas.²²

La concentración de proteínas obtenidas para los dos extractos de *Ustilago* sp. (el comercial y el casero) son iguales, lo que demuestra que a nivel nacional se pueden producir alérgenos a base de materia prima autóctona, con la misma calidad que en los laboratorios transnacionales. Conviene tener en cuenta que una de las razones de la variabilidad en los estudios de moho, para la hipersensibilidad tipo I, la constituye la cantidad de enzimas propias del hongo, que hacen que los alérgenos fúngicos sean inestables en su almacenamiento, como los alérgenos de cucaracha doméstica, por lo que se recomienda cambiarlos frecuentemente, con fechas de vencimiento cortas, de alrededor de un año, en los extractos acuosos, lo que hace el diagnóstico caro y complicado. Cabe resaltar la importancia

Cuadro 7: Determinación de la concentración de proteínas de los extractos de basidiomicetes, mg/mL

Extracto de basidiomicetes	Concentración (mg/mL)
<i>Ustilago</i> sp. aislado de <i>Panicum maximum</i> 1/10 P/V	10
<i>Ustilago cynodontis</i> 1/10 P/V	10
<i>Sporisorium cruentum</i> 1/10 P/V	12
<i>Puccinia graminis</i> subsp. <i>graminis</i> 1/10 P/V	60

de realizar análisis ambientales para conocer la biodiversidad característica de cada región del país y así ofrecer a cada paciente un diagnóstico más certero y una inmunoterapia efectiva.

Conflicto de interés: los autores reportan que no existe conflicto de interés.

Agradecimientos: Los autores agradecen al señor Bernal Burgos, quien ayudó con la toma de las fotografías de microscopía electrónica, y a la señora Mercedes Sánchez, encargada del mantenimiento de la micoteca y quien colaboró con la preparación de los extractos de *Ustilago*.

Referencias

1. Gómez L. Los basidiomicetes de Costa Rica. V. Paxillaceae (Agaricales, Boletineae). Brenesia. 1992; 38: 105-113.
2. Gómez L. Los basidiomicetes de Costa Rica. VI. Bondarzewiaceae (Agaricales, Russulineae). Brenesia. 1993; 39-40: 1-3.
3. Gómez L, Kisimova- Horovitz L. Basidiomicetes de Costa Rica. Nuevas especies de *Exobasidium* (Exobasidiaceae) y registros de Cryptobasidiales. Rev Biol Trop. 1998; 46: 4.
4. Jaikel D, Hernández S, Riggioni O, Gross N, Salas I. Contaminación fúngica ambiental en tres centros de enseñanza primaria del Cantón Central de Heredia. Trabajo final de graduación para optar por el grado de licenciatura en Microbiología y Química Clínica. Universidad de Costa Rica. 2008.
5. Deacon J. Modern Micology. Ter. Ed. England: Blackwell Science, 1997: 26-27.
6. Munkacsí A, Stoxen S, May G. *Ustilago maydis* populations tracked maize through domestication and cultivation in the Americas. Proc R Soc B. 2008; 275: 1037-1046.
7. Stolze-Rybczynski J, Cui Y, Stevens M, Davis D, Fischer M, Money N. Adaptation of the Spore Discharge Mechanism in the Basidiomycota. PLoS ONE. 2009; 4.
8. Germain H, Bergeron M, Bernier L, La flamme G, Hamelin R. Patterns of colonization and spread in the fungal spruce pathogen *Onnia tomentosa*. Mol Ecol. 2009.
9. Riggioni O, Montiel M, Fonseca J, Jaramillo O, Carvajal E, Rosencwaig P, Colmenares A. Hipersensibilidad tipo I a pólenes de gramíneas (por especie) en pacientes con rinitis alérgica. Rev Biol Trop. 1994; 42: 71-6.
10. Davis W, Horner W, Salvaggio J, Lehrer S. Basidiospore allergens: analysis of *Coprinus quadrididus* spore, cap, and stalk extracts. Clin Exp Allergy. 1988; 18: 261-267.
11. Tanaka H, Saikai T, Sugawara H, Takeya I; Tsunematsu K, Matsuura A, Abe S. Workplace-Related Chronic Cough on a Mushroom Farm. Chest. 2002; 122:1080-1085.
12. Ogawa H, Fujimura M, Takeuchi Y, Makimura K. The importance of basidiomycetous fungi cultured from the sputum of chronic idiopathic cough: a study to determine the existence of recognizable clinical patterns to distinguish CIC from non-CIC. Respir Med. 2009; 103: 1492-7.
13. Ahmed M, Ishino T, Takeno S, Hurakawa K. Bilateral allergic fungal rhinosinusitis caused by *Schizophillum commune* and *Aspergillus niger*. A case report. Rhinology. 2009; 47: 217-221.
14. Ichikawa K, Ito R, Kobayashi Y, Aihara M, Osuna H, Aihara Y. A pediatric case of anaphylaxis caused by Matsutake Mushroom (*Tricholoma Matsutake*) ingestion. Allergol Int. 2006; 55: 85-88.
15. Saikai T, Tanaka H, Sato N, Matsuura A. Mushroom plant workers experience a shift towards a T helper type 2 dominant state: contribution of innate immunity to spore antigen. Clin Exp Immunol. 2004; 135:119-124.
16. Bullens D, Decreane A, Dilssen E, Meyts I, De Bock K, Dupont J, Ceuppens J. Type III IFN- γ mRNA expression in sputum of adult and school-aged asthmatics. Clin Exp Allergy. 2008; 38: 1459-1467.
17. Germ G. Interferon γ and infections in the allergic population. World Allergy Organiz J. 2007: 3.
18. Jiménez A, López-Gonzalez M, Solano F, Candí A, Delgado F, Pintado E, Lucas M. Hypomethylation of DNA and resistance to apoptosis in tonsillar hypertrophy in children. Pediatr Allergy & Immunol. 2006; 17: 218-220.
19. Burger W. Flora costarricensis. Prim. ed. USA: Fieldiana Botany, 1980: 371-374.
20. Roitt I, Brostoff J, Male D, Roth D. Immunology. Set. ed. USA: Mosby Elsevier, 2007.
21. American College of Allergy and Immunology. Aeroallergen identification. USA: Allergy Research Laboratory, University of Michigan, 1989.
22. Anderson M, Baer H. In vitro methods for standardization of allergenic extracts. Clin Rev Allergy. 1986; 4:363-370.