

**ESTUDI DE LES ESPORES DE L'AIRE I LLUR
RELACIÓ AMB L'AL·LÈRGIA**

Comunicació presentada el dia 15 de desembre de 1966 per

R. ALEMANY i VALL

Cap del Servei d'Al·lèrgia de l'Hospital Municipal
de la Mare de Déu de l'Esperança (Barcelona)

Amb motiu de la segona Conferència Internacional de Pollenologia (pollen i espores) presentàrem el següent treball a la secció d'allèrgia: *L'estudi de les espores trobades en els portes de l'aparell de Durham exposats i llur relació clínica.*

Els portes exposats foren empastifats amb una barreja de vaselina líquida i sòlida a parts iguals, capa greixosa que retenia el pollen, espores, insectes, pols, etc.

Aquest aparell fou exposat durant catorze mesos, un dia rera l'altre, unes vint-i-quatre hores, al terrat del nostre Hospital, canviant els portes cada matí a les deu. El pollen i les espores foren estudiats a la Universitat seguint el consell del nostre mestre el botànic Dr. Montserrat.

Al costat d'això hi ha també l'estudi dels bolets crescuts en plaques de Petri amb cultiu maltosat, en les quals es dipositen les espores de l'aire de les habitacions d'allèrgics que sospitàvem que fossin sensibilitzats a bolets. Aquest estudi, fa uns vint-i-tres o vint-i-quatre anys que el practiquem cinc o sis vegades cada mes des del nostre primer treball de bolets a la revista «Medicina Clínica» (agost 1944), després continuat fins i tot en aquest mateix edifici dels Dispensaris Blancs mercès a la benvolença del Dr. Xalabarder, i després al nostre Hospital de l'Esperança amb la col·laboració de la Dra. Sans i Mallafré, treballs que foren publicats a «Medicina Clínica» (agost 1954) i a «Cronicismos» (desembre 1960) i en la nostra ponència *Pollinosi* (1954). Aquestes plaques es deixaven mitja hora cada dia, al llarg de tres, al dormitori, al menjador, etc., del malalt; hom observava llavors els bolets al cap de tres o quatre dies i després el temps apropiat per a ésser individualitzats i separats per a fer extractes diagnòstics, terapèutics. Això serví com a guia en el diagnòstic clínic per al·lèrgia als bolets i per al tractament consecutiu per als malalts que consideràvem específics.

Al laboratori, en els portes exposats, posàrem una gota del colorant dit Colberla (glicerina 5 cc, alcohol 10 cc, aigua destil·lada 10 cc, solució de fucsina a concentració mitjana, dues gotes) al centre, i després un tapaobjectes normal; el colorant tenia els pòllens i, en canvi, no afectava les espores, que conservaven llur coloració original.

Sobretot a l'hivern i a la primavera, tot i haver-hi espores, hi havia

molts pòllens. Les espores començaven a augmentar al final de primavera, d'estiu i de tardor, i molt sovint cap al final d'aquest cicle solament hi havia espores en els portes exposats.

Hem estudiat la relació entre les espores dels portes i les condicions atmosfèriques tals com la humitat, la temperatura, els vents, les pluges, la insolació, etc. Sovint hem visitat el Centre Meteorològic, situat molt prop de l'Hospital Municipal de la Mare de Déu de l'Esperança.

Els factors que contribuïen a fer augmentar el nombre d'espores en els portes eren la humitat atmosfèrica elevada, i després la temperatura també elevada, sobretot a l'estiu i a la tardor. Pel que fa als vents, els fluixos afavorien el dipòsit de les espores, mentre que els forts només augmentaven la pols. Les pluges intenses o mitjanes impedièen el dipòsit a l'aparell de Durham; en canvi, les petites, encara que fossin prolongades (per exemple, de les set del matí fins al migdia), dificultaven el dipòsit de pòllens però no eren obstacle perquè apareguessin espores. Amb la humitat teníem en compte l'evaporació; en canvi, quan no hi havia sol, quan el cel era totalment cobert de núvols, no vèiem espores. Coneixíem que havia plogut sempre que en els portes trobàvem cristalls d'aigua. El vent de llevant fort, amb pluges, dificultava que hi hagués espores.

Com veurem, hi ha una relació del nombre d'espores amb el temps i les condicions locals atmosfèriques.

L'estudi de les espores dels portes no és fàcil. Després d'estudiar-ne la morfologia i la grandària, consultàrem molts llibres de Micologia per tal de classificar-les (González Fragoso, Langéron, Smith, Nigold, Gliman, Lasa, etc., etc.). Teníem en compte la mena de reproducció dels bolets, sexual o per conidis, estudi prou difícil perquè sovint existeixen les dues menes de reproducció. Nosaltres ens referirem més a una forma general d'espora que no a un determinat gènere; per exemple, diem tipus *Macrosporium* per a una espora que tingui les característiques de les de *Macrosporium* (de la mateixa manera que diem pollen de tipus *Corylus*, bé que la mida i l'estació de l'any siguin diferents per als pòllens de *Corylus*, *Coriaria myrtifolia*, *Casuarina*, etc.). Per al nostre judici com a metge i allergòleg, això és suficient; no ho és, en canvi, per al micòleg.

Nosaltres classifiquem les espores trobades en els portes en nou grups: 1.^r Ascomicets; 2.ⁿ Tipus *Macrosporium*; 3.^r Tipus *Alternaria*; 4.^t *Uredospores*; 5.^è *Teleutospores*; 6.^è *Hemilthosporium Suondilocladium*, *Sincephalastrum*; 7.^è *Hormodendrum* o *Cladosporium*; 8.^è Grans espores impossibles de classificar; 9.^è Petites espores sense classificació.

1.^r grup: Ascomicets.

Aquests bolets tenen llurs espores (ascospores) a l'interior d'una massa, la qual, en el moment oportú, s'obre i distribueix les espores en l'aire. Aquesta descàrrega és alguna vegada explosiva, similar a la que es produeix

quan s'obren les anteres de *Parietaria officinalis*, planta que és causa de nombrosos casos de pol·linosi a l'àrea mediterrània.

Les espores d'Ascomicets són ovals o el·líptiques, de paret externa llisa i regular, hialines o lleugerament fosques, sense «cross-septe», separació transversal, o bé amb separacions transversals. L'espora sense «cross-septe» té una dimensió, segons les nostres mides sobre els portes, de 19 micres; les que tenen «cross-septe», separacions, la mida és de 22-23 micres, fins i tot 36 micres les que tenen tres o quatre separacions; les que en tenen cinc, sis o fins i tot set, encara són més llargues. La mida de cada compartiment de l'espora és de 3 a 6 micres.

Els Ascomicets amb tres, quatre o cinc separacions disposades més irregularment, no transversals perfectes, potser són Pleospores. Fins i tot hi ha transició entre les Pleospores, les de tipus *Macrosporium* i les *Alternàries*.

2.^a grup: Tipus *Macrosporium*.

Espora oblonga, amb extremitats obtuses, l'una més que l'altra; enmig de l'espora hi ha una separació regular, «cross-septe», o altres separacions, «cross-septe», disposades d'una manera irregular. L'espora d'aquest tipus té un to fosc, el seu contorn està proveït de nombroses espícules. La mida és de 29 micres.

Algunes espores de *Macrosporium* tenen un pedicel especial, la qual cosa permet de suposar que molts *Macrosporium* són en realitat *Alternaria* (Langéron).

3.^a grup: Tipus *Alternaria*.

El conidi és format de moltes cèl·lules «inflades»; aquest conidi acaba en un pedicel. La cadena de les cèl·lules del conidi, segons les nostres observacions, té de 39 a 70 micres. El pedicel pot ésser curt, unes 6-13 micres, o bé molt llarg 30 micres. El conidi pot ésser lliure, o bé en cadena l'un darrera l'altre.

4.^a i 5.^e grups: Tipus Uredospores i Basidiomicets.

Les espores tenen forma arrodonida, algunes vegades només és possible de veure una porció de l'espora, ja que l'altra està invaginada a la primera. Color groc. La paret externa és grossa i formada per dues cobertes bastant separades; hi ha dos nuclis en el protoplasma, no sempre centrals, separats. La mida és de 22-26 micres, i la paret exterior, amb les dues cobertes, té unes dues o tres micres.

Les Uredospores poden transformar-se en Teleutospores. Les Teleutospores tenen —les que hem vist— dues cèl·lules, una de superior (23-26 micres) i una d'inferior (28-30 micres); aquesta última té un pedicel. La Teleutospora és de 60-70 micres de llargada.

Els *Ustilago*, i les *Tilletia*, basidiomicets de les Ustilaginàcies tenen aquestes cèl·lules en general més petites, rodones i fosques, amb espícules; són formes de resistència o clamidospores.

Les teleutospores de 3-4-5 cèl·lules, no les hem vistes mai en els portes, com tampoc els basidis i les basidiospores de l'*Ustilago* i de la *Tilletia*. Només hem vist tres vegades els *Urocystis* de cèl·lules negres a l'interior, fèrtils, voltats d'altres tres cèl·lules, de color més o menys blanc i infèrtils.

6.è grup: Tipus *Helminthosporium*, *Sincephalastrum*, *Spondilocladium*.

Són Hifals el primer i el tercer, o sigui *fungi imperfecti*; el segon, el *Sincephalastrum*, és una Mucoràcia. Aquestes tres classes de conidis són ben diferents quan els bolets són cultivats, però quan estan en els portes exposats han perdut en part llurs veritables característiques, però tenen una forma més o menys semblant.

El gran *Helminthosporium* té unes 80 micres de llarg, cada compartiment celular, en realitat una espora, és rectangular, i té unes 9 micres. El *Spondilocladium* és lleugerament corbat o bé rectilini; la segmentació és irregular, i més separat de la paret externa que la de l'*Helminthosporium*; el conidi del *Spondilocladium* té unes 35-60 micres de llargada. El *Sincephalastrum* també és segmentat, és com una llarga massa celular, la qual mesura en total de 27 a 36 micres, cada cèl·lula mesura unes 6 micres. Algunes vegades la cadena de les cèl·lules-espores (conidi) no té paret externa, ha desaparegut en el porta.

7.è grup: Tipus *Hormodendrum*, *Cladosporium* (alguns autors els confonen i en fan un sol gènere i espècie; d'altres fan la diferenciació; en realitat són diferents —VRIES G. A.—).

Les espores estan juntes, agregades, de vegades en gran nombre. Les espores de l'*Hormodendrum* són simples, sense separacions, oblongues, de 3-5 fins a 8 micres, grogues o negres (no del tot). Les espores del *Cladosporium* són iguals a les espores de l'*Hormodendrum* però més llargues (8-10 micres), negreses, punxegudes, amb una separació *cross-septa*. En fem un sol grup.

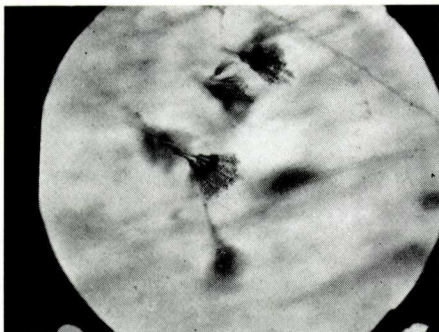
8.è grup: Gran espores que no és possible de posar en un grup classificable tal com alguns llevats, *Monosporium*, etc.

9.è grup: Petites espores no classificables tals com les espores del *Botrytis* (pàlid o rosat, de 5 a 7 micres), *Trichodermus* (4-5 micres), etc.

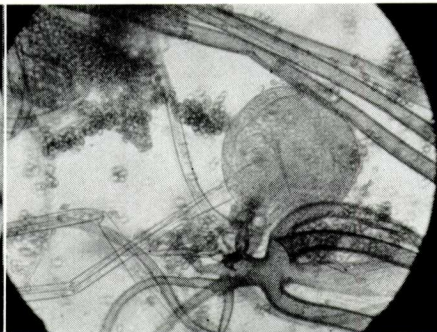
Les espores que tenen un significat en l'allèrgia són el *Macrosporium*, *Alternaria*, *Helmyntisporium*, *Cladosporium*, *Urodoespores*, *Sincephalastrum* i llevats. No es troben en els portes el *Fusarium*, el *Cephalosporium* (espores unides entre elles per una espècie de substància mucilaginosa).

Publiquem a part el nombre i els tipus d'espores trobats tot l'any segons els quadres fotogràfics que incloem (); són els mesos de juny a octubre, en els quals les espores són més abundants en els portes, però n'hi ha tot l'any; per exemple, 335 espores el juny, 281 el juliol, 279 l'agost, 196 el setembre, 361 l'octubre; en canvi, el febrer només n'hem trobades 32, i el març 26; recordem que el dia 15 de juny trobarem 15 *Alter-*

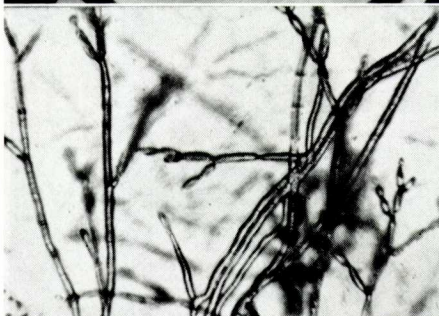
1



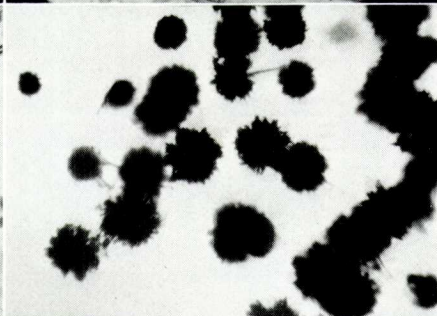
2



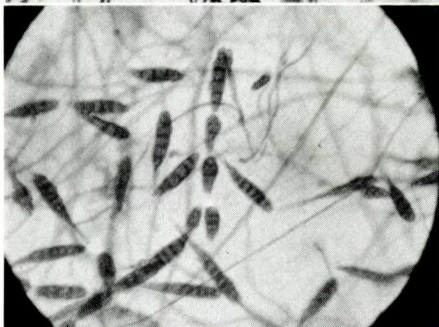
3



4



5



6



7

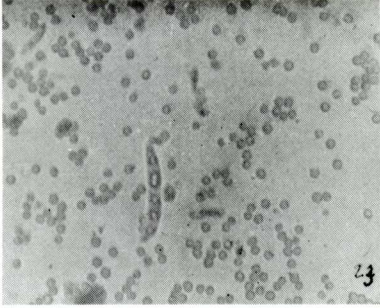


8



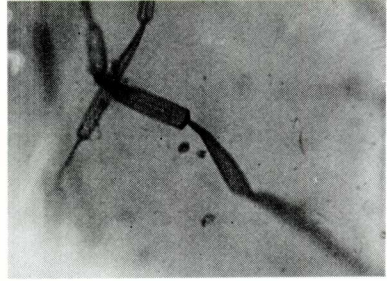
1. *Penicillium*. — 2. *Rhizoides*. — 3. *Cladosporium*. — 4. *Aspergillus*. — 5. *Alternaria*.
7. *Aspergillus fumigatus*. — 8. *Aspergillus niger*

9



9. *Fusarium*

10



10. *Miceli*

NOMBRE DE ESPORES TROBADES EN LA EXTENSIÓN DE 2 CM₂ DE PORTA

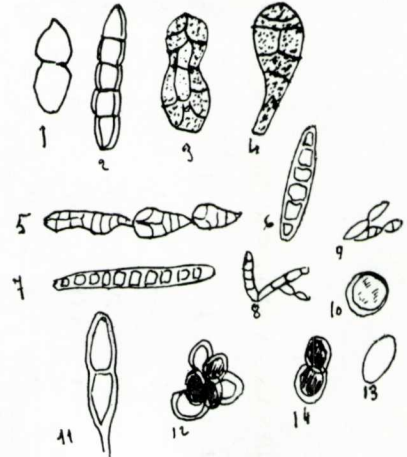
	Gener	Feb.	Març	Abril	Maig	Juny	Juliol	Agost	Sept.	Oct.	Nov.	Descm.
<i>Ascus</i>	0	0	9	16	9	32	21	23	16	37	9	5
<i>Macrosporium</i>	4	4	0	0	6	40	35	38	7	29	12	18
<i>Alternaria</i>	4	2	8	13	21	141	107	93	40	80	37	28
<i>Uredospores</i>	5	2	1	0	0	4	0	16	87	62	11	18
<i>Teleudospores</i>	0	3	1	0	1	10	0	2	4	0	2	7
<i>Helminthosporium</i>												
<i>Syncephalastrum</i>	3	3	1	1	6	23	2	10	5	11	7	7
<i>Spondylocidium</i>												
<i>Cladosporium</i>	10	1	0	0	54	66	107	90	25	118	65	75
<i>Espores G.</i>	9	5	2	5	4	11	14	5	2	8	20	44
<i>Espores P.</i>	15	12	4	7	2	8	3	2	10	16	10	37
TOTAL	50	32	26	42	103	335	281	279	196	361	173	239

naria en la dimensió d'un tapaobjectes; que els *Hormodendrum* amb els *Cladosporium* foren més abundants el juliol, etc.

Referent als bolets crescuts en plaques de Petri sempre era *Penicillium* el més abundant, després *Cladosporium*, *Alternaria* i *Rhizopus*; el *Mucor* menys en proporció als altres mencionats, tots aquests foren trobats tot l'any. *Aspergillus*, més freqüent potser a la primavera i a l'estiu, igual que els llevats (els blancs, els grocs i menys els de color roig fort). *Phoma* no excepcionalment, rarament *Trichothecium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, i sola-

ESPORES

- 1-2, *Ascus*; 3-4, *Macrosporium*; 5, *Alternaria*;
6, *Herminthoscorium*; 7, *Sincephalastrum*;
8-9, *Cladosporium*; 10, *Uredospora*; 11, *Teleutospora*;
12, *Urocystis*; 13-14, *Espores*



ment dues o tres vegades *Verticillium* i *Nigrospora*. *Eqquicoco*, malgrat que deu estar a l'aire per la freqüència amb què els autors estrangers el troben, no l'hem vist mai. El miceli estèril, fins algunes vegades amb intradermo positiva en al·lèrgics. El *Mucor mucedo* i el *M. racemosus*, sempre els hem trobats en els llocs on feien pa.

Dels *Penicillium*, els més nombrosos eren els que tenien rams asimètrics portadors d'espores en llurs extremitats (nascudes en dos llocs distints), també el *P. biverticillata* i *P. symetrica*. El *Penicillium* asimètric (dos conidiòfors asimètrics) era potser *P. divaricata*; solament hem vist una vegada *P. digitatum*, amb conidiòfors de variable llargada i molt pobre en espores, tenia l'aparença de l'esquelet de la mà.

Aspergillus, de vegades era fàcil de diferenciar del *Penicillium*, d'altres calia un estudi llarg per a trobar el «cap» on neixen les espores. *Aspergillus niger*, que té la «cabellera» d'espores ben individualitzada, d'un negre molt fort i com separada a la perifèria, el trobarem en una o dues colònies per placa. Solament hem trobat dues vegades *A. florus-oryzae*, identificat a la secció de Micologia de la Facultat de Medicina de París (Mme. DREYFUS). Mai no hem vist *A. claratus* amb «cap» allargat. D'*Alternaria* era més freqüent l'espècie *A. tenuis* que l'*A. brassicae*. *Rhizopus nigricans*, *Monilia*,

poques vegades el *Fusarium*, algun *Sphorophora* que no fou possible d'identificar; alguna *Stillicea* que tenia l'aspecte de la tija d'un *Plantago*, però alguns dies després les espores ho havien envaït tot, i no fou possible d'anar més enllà en la diferenciació. No es veuen, com ja és sabut, en les plaques de Petri, *Ustilago* ni *Tilletia*.

Aquestes investigacions sobre el contingut en espores de l'aire mitjançant els portes i les plaques de Petri tenen valor més aviat d'una faisó indirecta que directa tot ajudant a pensar des d'un punt de vista biològic.

L'estudi de les espores pel l'aparell de Durham pot ajudar al diagnòstic de les afeccions al·lèrgiques, i quant a l'etiologia, potser no tant pel que fa al mateix estudi dels pòllens, ja que amb aquests últims hem diagnosticat etiològicament afeccions pel pollen de *Parietaria*, *Chenopodium*, *Helianthus* (aquesta darrera malgrat ésser una composta més aviat entomòfila que no anemòfila). L'estudi dels bolets ja desenvolupats en les plaques de Petri ens ha permès de veure la no uniformitat de les espores en el microclima casolà dels malalts, perquè al costat de plaques amb *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Alternaria* n'hi ha d'altres que solament contenen llevats o *Mucor* i fins i tot només micelis estèrils; bolets que, preparats posteriorment en forma d'extrets, donaren o no reacció en els malalts a l'habitació dels quals havia estat exposada la placa d'on procedia l'extret; en els casos en què produïen reaccions positives cutànies els extrets eren utilitzats com a tractament.

L'etiologia de les afeccions al·lèrgiques als bolets no és fàcil de descobrir, contràriament al que passa amb les afeccions per pollen de clínica més característica i de proves positives més evidents a nivell de la pell. Això és degut, primer, al fet que, en comptes d'ésser una al·lèrgia immediata, és tardana. En les intradermos amb extrets de bolets, més que la reacció immediata, té valor la reacció tardana a les 24-48-72 hores i amb febre lleugera (37,2-37,3-37,4 °C), amb aparició de crisis asmàtiques o bé amb una exacerbació o una repetició de l'atac bronquial. No hi ha gairebé anticossos circulants, talment que no es pot practicar la transferència passiva per mitjà del sèrum a un normal; els anticossos són més aviat isolats, la reacció tardana pot durar dies, no solament a la pell, sinó també als bronquis, els quals poden donar fins i tot un estat asmàtic (sense que hi hagi millora en traslladar-los a un ambient d'aire pur); podríem dir que els antigens o els al·lèrgens han estat fixats un cert temps.

La prova de l'aerosol amb extret de bolets (sense que el malalt ho sàpiga) pot donar edema facial, llagrimaig, rinitis i asma, en general passades algunes hores. Els extrets donen reacció als malalts que tenen història i no en donen en al·lèrgies d'altra etiologia.

Podem establir els següents grups per afecció al·lèrgica a bolets:

Grup 1.^{er}: Solament hi ha rinitis més aviat estacional, o sigui a la prima-

vera, a l'estiu o a la tardor, que és quan hi ha més espores en l'aire, o bé deguda a certes ocupacions (traficants en fruites parasitades per bolets, etc.); són, en general, pocs els casos. No hem vist mai afeccions oculars en forma de conjuntivitis o blefaritis, com descriuen alguns autors (WOLF).

Grup 2.^a: Asma sol, sense rinitis, car les espores, pel fet d'ésser tan petites, passen de llarg pel conducte nasal i es dipositen a les extremitats fines dels bronquis; asma estacional, primaveral, o a l'estiu o a la tardor, amb intradermo positiva als extrems que dona lloc a una lleugera infiltració cutània amb febrícula, eosinofília sanguínia, sense expectoració i que respon favorablement al tractament específic amb extrems; de vegades són suficients poques injeccions de sensibilitzants, però en general cal practicar-les molt sovint per espai d'uns quants anys.

Grup 3.^r: Asmàtics inveterats amb crisis bronquials antigues i freqüents que viuen a les fleques on es fabrica el pa, en cases velles, humides, amb pols, etc.; les proves amb bolets de vegades són molt positives, i d'altres, amb prou feines; en aquests casos no es pot dessensibilitzar. Com a prova, el malalt ha d'abandonar el seu ambient; alguns no poden romandre mitja hora a la fleca sense tenir un altre atac asmàtic, han de dormir en un altre lloc. En algun d'aquests últims individus la injecció repetida de penicilina dona lloc, dos o tres dies després, a unes crisis bronquials intensíssimes que duren dies i acusen més eosinofília sanguínia, febrícula sense calfred, lleuger dolor local al lloc de la injecció sense que hi hagi infecció; en d'altres, els qui viuen en cases velles, humides, els bolets injectats produeixen crisis bronquials; a la inspecció no s'observa res de particular, no es veuen bolets, però cal que abandonin l'ambient, perquè les crisis d'asma es repeteixen i poden portar fatals conseqüències. Hi ha autors segons els quals, a més de bolets, són els miasmes que no es veuen ni s'han trobat. Això fou dit a la segona Conferència de Pollenologia, a la secció de bolets, perquè els miasmes suposen parts moleculars d'agents diversos (recordem que un microbi pot contenir molts antígens).

Grup 4.^t: És l'asma en el qual es troben lesions tuberculoses antigues, cicatricials, les quals són origen d'asma i que predisposen a d'altres sensibilitzacions tals com urticària a la ingesta d'ous; reaccions positives a bolets no solament a la pell, sinó també al pulmó, que perduren; i que la dessensibilització amb els extrems de bolets poca cosa fa; en canvi, sí les hidràcides, etc. Recordem que LANGÉRON diu, en tractar de les blastomycosis, histoplasmosis, que hom cerqui sempre el terreny, la lesió tuberculosa predisposant a la sensibilització posterior a bolets.

Això és, en síntesi, el que hem trobat en la nostra pràctica tant en l'estudi de les espores com en llur relació amb l'allèrgia, i que l'allèrgia a bolets comprovada certament és en realitat en pocs casos clínics un factor únic: 4 casos en el grup 1.^r, 7 en el 2.^a, 8 en el 3.^r, i uns 10 en el 4.^t