

A. Ausín, M.C. Moreno-Escobosa, N. Rubira, P. Amat, E. Serra-Baldrich, M. Lluch-Pérez, B. Bartolomé, A. Malet

Al•lergo-Centre, Barcelona.
^aLaboratorios Bial-Arístegui, Bilbao.

Caso clínico

Asma ocupacional por polvo de espinaca

Antecedentes y objetivos: Los alimentos pueden ser causa de enfermedades respiratorias como antígenos inhalados. Se presenta un caso de un varón de 45 años, panadero, sin antecedentes de atopia, que presenta síntomas de rinoconjuntivitis y asma bronquial en relación con la manipulación de polvo de espinaca deshidratada, que utiliza para el enriquecimiento de harinas integrales en la fabricación del pan integral. El paciente tolera la ingesta de espinaca, pan y bollería. *Material y métodos:* Se realizó *prick test* con extracto de polvo de espinaca deshidratada (30 mg/ml) y prueba de provocación nasal con extracto de espinaca deshidratada, así como determinación de IgE específica mediante el método HY-TEC-EIA e SDS-PAGE-immunoblotting. *Resultados:* El *prick test* con extracto de polvo de espinaca deshidratada (30 mg/ml) fue positivo. La prueba de provocación nasal con el extracto de espinaca deshidratada fue positiva a una dilución 1/1000 desencadenándose de forma inmediata síntomas clínicos de rinitis; se pudo observar aumento de las resistencias y disminución en el flujo total mayor del 50%. La IgE específica fue de 1,64 kU/L y mediante la técnica SDS-PAGE *immunoblotting* se determinó una banda proteica fijadora de IgE de 29,6 KDa. *Conclusiones:* Se describe la hipersensibilidad mediada por IgE frente a polvo de espinaca en un paciente panadero que presentaba síntomas de rinitis y asma con su manipulación. El paciente se encuentra asintomático al evitar su contacto. La sensibilización a otros vegetales utilizados en la masa del pan puede ser la causa de asma ocupacional por antígenos ocultos y poco frecuentes.

Palabras clave: Alergia. Asma. Espinaca. Ocupacional.

Asthma occupational to Spinach powder

Background: Food can cause respiratory diseases as inhaled antigens. We report the case of a 45 old-year baker who developed rhinoconjunctivitis and asthma when manipulate spinach powder. This vegetable is mixed with flour for making whole meal bread. *Methods:* Prick testing (10 mg/ml) and nasal challenge test (10 mg/ml in 1/1000 dilution) and detection of specific IgE and Immunoblotting assesses sensitisation to spinach powder. *Results:* The skin test showed hypersensitivity to spinach powder, and nasal provocation test also was positive. Specific IgE is performed with HY-TEC-EIA method, presenting a 1,64 kU/l RAST. SDS-PAGE Immunoblotting reveals the presence of specific IgE and shows a protein band of 29.6 kDa. *Conclusions:* A case of IgE-mediated hypersensitivity to spinach powder in a baker is reported. Some vegetables added to flour could be a no frequent

Correspondencia:
Dr. Alfonso Malet Casajuana
Al•lergo-Centre
Laforja 95, pral 1^a
08021 Barcelona

cause of occupational asthma in bakers. The patient can eat spinach, bread and flour. Now the patient has no symptoms without any contact with spinach at work.

Key words: Allergy. Asthma. Occupational. Spinach.

Los alimentos pueden ser causa de enfermedades alérgicas respiratorias al actuar como antígenos inhalados. El ejemplo más conocido es el asma del panadero por exposición a harinas de cereales y leguminosas como la soja y la almorta¹⁻³.

El objetivo del presente estudio es demostrar la relación entre los síntomas clínicos de un panadero y su posible sensibilización a otro vegetal: espinaca. El paciente utiliza la espinaca en su trabajo diario para el enriquecimiento en fibras vegetales de las harinas integrales.

La espinaca, *Spinacia oleracea*, es una planta herbácea de la familia *Chenopodiaceae*, cuyas hojas son apropiadas para el consumo humano cuando aún son jóvenes. Es apreciada como fuente de folatos, magnesio, calcio y sodio así como de vitaminas A, C y E.

La espinaca es utilizada por sus características laxantes y diuréticas como complemento a las harinas habituales en la fabricación de pan integral.

OBSERVACIÓN CLÍNICA

Se trata de un varón de 42 años, sin antecedentes personales de interés. No presenta antecedentes personales ni familiares de atopia. Acudió a la consulta por presentar síntomas de rinoconjuntivitis en los últimos 3 años, que en el último año se habían acompañado de tos, disnea y sibilancias.

El paciente relacionaba la aparición de estos síntomas con su ambiente laboral y concretamente con la manipulación de polvo de espinaca deshidratada que utiliza para enriquecer las harinas integrales en la fabricación de pan.

La empresa pertenece a la familia del paciente que desde niño ha acudido a las instalaciones, sin presentar síntomas hasta los descritos. La espinaca deshidratada se utiliza como complemento desde hacía unos 5 años.

Cuando el paciente acudió a consulta trabajaba fundamentalmente en labores administrativas y sólo colaboraba en la elaboración del pan esporádicamente, presentando durante el último año síntomas de rinoconjuntivitis y asma

al hacerlo. Estos también aparecían si no quedaban bien cerradas las puertas y barreras que le separan de las áreas de fabricación de pan.

Los síntomas inicialmente se controlaron con salbutamol inhalado en estas ocasiones, pero al cabo de 6 meses presentó un episodio que requirió asistencia a urgencias y desde entonces su médico de cabecera instauró tratamiento con budesonida (400 µg/12 horas). Se encontraba asintomático cuando acudió a la consulta para estudio.

MÉTODOS

Estudio *in vivo*: prueba cutánea y prueba de provocación nasal

- Se realizaron pruebas cutáneas frente a neumoalérgenos habituales en nuestro medio: ácaros del polvo doméstico, epitelios de animales, látex, y polen de gramíneas, olivo, ciprés y platanos así como de plantas herbáceas incluyendo la familia *Chenopodiaceae*. Se realizó también el estudio habitual en panaderos con *prick test* frente a harinas de trigo, cebada, centeno, avena, maíz, enzimas (alfa-amilasa, tripsina, quimiotripsina, papaína), hongos ambientales y de almacén, cereales (trigo, cebada, avena, centeno, maíz) y ácaros de almacén (*Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*), siguiendo para todas ellas las normas de la EAACI. Se realizó también *prick-test* con extracto comercial de espinaca (Lab. Leti) así como frente a otras verduras y hortalizas.

- El paciente aportó la espinaca deshidratada que manipula en la panadería y con ella se realizó un extracto proteico a concentración de 30 mg/ml (Lab. Bial-Arístegui). Se realizaron controles en 10 individuos atópicos y 10 no atópicos.

- Se completó el estudio con las pruebas de provocación nasal con extracto de harina de cebada (Lab. Leti) y con extracto de espinaca deshidratada, elaborado en Lab. Bial-Arístegui (10 mg/ml). Se realizó una rinomanometría basal previa con el paciente asintomático, sin tratamiento e instilándole después el extracto de espinaca deshidratada a dilución 1/1000. Se realizaron controles clínicos y rinomanométricos con Rinomanómetro Rhinotest MP 500. Se realizaron controles en pacientes atópicos y no atópicos.

Estudio *in vitro*: detección de IgE específica y SDS-PAGE

- La IgE total fue determinada por el método CAP-Pharmacia, así como la IgE específica para espinaca, pólenes harinas y cereales.

- Se realizó también la detección de IgE específica para espinaca deshidratada aportada por el paciente (Lab. Bial-Arístegui) por HY-TEC EIA, utilizando discos Ifidesa-Arístegui, con alérgeno acoplado (2 mg/disco) a discos activados con BrCN. El desarrollo se efectuó con el equipo de HY-TEC EIA para la IgE específica (Hycor Biomedical Inc.)

- El SDS-PAGE fue realizado en Lab. Bial-Arístegui por el método discontinuo de Laemmli en gel de acrilamida al 12% con tinción de proteínas con azul de Coomassie R-250, o tinción de plata según necesidad, y aplicación en paralelo de un patrón de proteínas con masas moleculares conocidas (Pharmacia Biotech): fosforilasa b(94,0 kDa), seroalbúmina bovina (67,0 kDa), ovoalbúmina (43,0 kDa), anhidrasa carbónica (30,0 kDa) y α -lactoalbúmina (14,4 kDa). Se añadieron 10 μ l/calle de patrón y muestra, conteniendo 20 μ g de proteína (Bradford) cada una, cuando se utiliza la tinción de Coomassie y de 1 μ g cuando se utiliza la tinción de plata. La tinción de plata se realizó con el equipo Silver Stain Plus (BIO-RAD), siguiendo las especificaciones del fabricante.

- Las proteínas separadas en SDS-PAGE se electrotransferieron a membranas de PVDF (Inmobilon-P) y, posteriormente, se incubaron con el suero del paciente. Las bandas fijadoras de IgE fueron reveladas con un sistema enzimático, utilizando un conjugado de anti-IgE-peroxidasa revelado con 4-cloro-1-naftol o con lumigenPS-3 (detección por quimioluminiscencia) según conveniencia. El patrón de masas moleculares se reveló con Negro Amido.

RESULTADOS

Estudio *in vivo*: pruebas cutáneas y pruebas de provocación nasal (tabla I)

- Las pruebas cutáneas resultaron todas negativas, incluyendo pólenes, harinas y enzimas, excepto para harina de cebada que fue positiva obteniéndose una pápula de 3x3 mm. El *prick-test* con extracto comercial de espinaca fue positivo con una pápula de 3x3 mm.

- El *prick-test* con extracto de polvo de espinaca preparado en Laboratorios Bial-Arístegui a concentración de 30 mg/ml dio lugar a una pápula de 14 x 9 mm. El resultado en los pacientes control fue negativo en todos ellos.

- A pesar de no manejar en su trabajo harina de cebada, dado el resultado de la prueba cutánea, se completa el estudio realizando provocación nasal con extracto de

Tabla I. Resultados de pruebas *in vivo*

	<i>Prick-test</i> (mm)	IgE-CAP (kU/l)	Prueba de provocación nasal
Espinaca	14x9	6,34	Positiva
Harina de cebada	3x3	3.60	Negativa

harina de cebada (Lab. Leti) que fue negativa, aumentando progresivamente la concentración cada 20 minutos hasta llegar a la concentración 1/1, sin presentar síntomas clínicos ni cambios rinomanométricos.

El test de provocación con extracto de espinaca a 10 mg/ml fue positivo a dilución 1/1000 presentado prurito nasal, hidrorrea y obstrucción, observándose una caída del valor del flujo total de más de un 50% e incrementándose más de 10 veces el valor de la resistencia total con respecto a la rinomanometría basal.

Estudio *in vitro*: detección de IgE específica y SDS-PAGE

- La IgE total determinada fue de 98,88 kU/l.

- La IgE específica por método CAP-Pharmacia fue positiva para harina de cebada con un valor de 3,40 kU/l (clase 2) y también positiva para espinaca con un valor de 6,34 kU/l (clase 3).

La IgE específica frente a la espinaca deshidratada determinada mediante ensayo HY-TEC EIA fue positiva con un valor del 1.64 kU/l, correspondiente a una clase 2.

- En el SDS-PAGE Inmunoblotting se apreció la presencia de una banda fijadora de IgE con una masa molecular de 29,6 kDa. Si el ensayo se realizaba con extracto de pastilla de espinaca (preparado para las proteínas que precipitan tras hacer la diálisis de las proteínas extraídas a partir de polvo de espinaca) apareció una proteína de 32 kDa. Muy probablemente ambos resultados se deben a la misma proteína, que aparece en cada extracto debido a la naturaleza exacta de la muestra (estado de la proteína, y de otras acompañantes, otros compuestos no proteicos de la muestra, etc) (fig. 1).

DISCUSIÓN

Se presenta un caso de sensibilización a polvo de espinaca deshidratada en un panadero que la manipula habitualmente en su trabajo.

Es conocido desde hace décadas que la exposición a

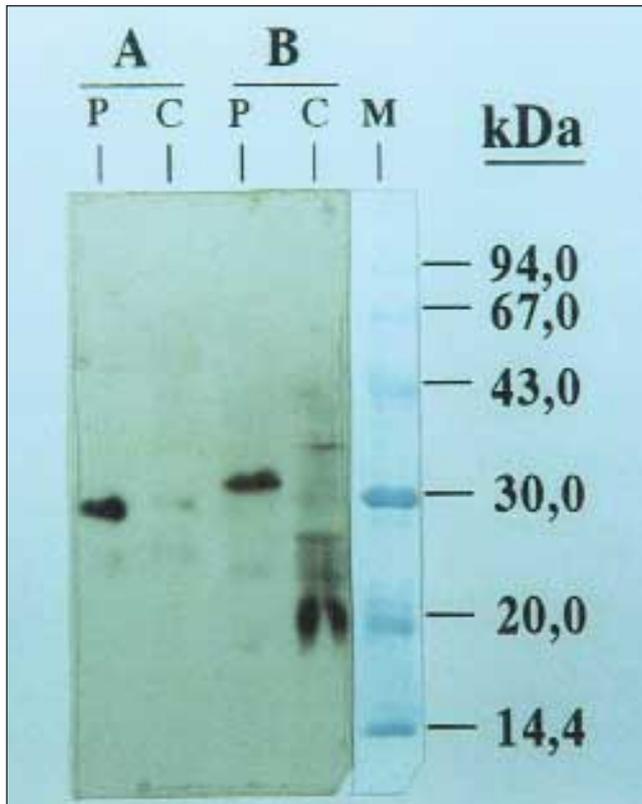


Fig. 1. SDS-PAGE *Immunoblotting*. A: extracto de polvo de espinacas; B: extracto de pastilla de polvo de espinaca; Calle P: suero del paciente; Calle C: suero control (conjunto de sueros de personas no alérgicas); M: patrón de masas moleculares.

la harina y al polvo de cereales puede causar síntomas respiratorios de rinitis y asma bronquial. El concepto de asma del panadero como enfermedad fue introducido en 1929 por DeBesche¹, y desde entonces múltiples alérgenos se han propuesto como causantes de síntomas respiratorios, no sólo los componentes de los cereales sino también de sus múltiples contaminantes (esporas de pólenes, enzimas, ácaros...).

Se ha descrito y estudiado en profundidad el asma por inhalación de distintas harinas de vegetales utilizadas por los panaderos, como las leguminosas soja y almorta^{2,3}.

En el caso que nos ocupa, el paciente trabaja en la panadería como negocio familiar desde la infancia y ha comenzado a presentar síntomas hace unos 3 años, relacionándolos claramente con la exposición al polvo de espinaca deshidratada. Debido a las propiedades laxantes y emolientes de la espinaca, así como de su aporte en vitamina A y también C y E y de hierro, folatos y magnesio y calcio, se utiliza como complemento por algunas empresas en la fabricación de pan integral. Se utiliza en su forma deshidratada, en forma de cilindros de unos 3 cm de largo, que se mezclan con harinas y aditivos.

La espinaca, *Spinacea oleracea*, es una planta herbácea anual de la familia *Cheonopodiaceae* de corto desarrollo y de hojas de un verde oscuro insertadas en un tallo corto. Sus hojas son adecuadas para el consumo cuando aún son jóvenes. Su consumo fue introducido en España por los árabes y hoy están disponibles todo el año, consumiéndose sus formas frescas y congeladas, así como deshidratada.

Está descrito la sensibilización a otras hortalizas (judías verdes, acelgas y patatas) en amas de casa que presentaban asma tras la inhalación de vapores durante la cocción⁴. En estas pacientes es frecuente la urticaria de contacto al manipular las hortalizas y se han realizado estudios de reactividad cruzada entre hortalizas confirmándose en pruebas cutáneas y estudio *in vitro* pero sin relevancia clínica.

Estas pacientes presentaban rinitis y asma bronquial por sensibilización a polen de gramíneas y urticaria de contacto con las hortalizas, pero toleraban su ingesta.

El paciente estudiado no presenta síntomas de urticaria al contacto con la espinaca y no tenía problema con su ingesta cocinada ni cruda. Además, no presentaba sensibilización a polen de gramíneas ni tampoco a otros pólenes de la familia *Chenopodiaceae*.

En cuanto a síntomas tras la ingestión de espinaca se ha descrito el síndrome de alergia oral⁵, e incluso anafilaxia inducida por ejercicio, pero en este caso con reactividad cruzada con látex⁶, que está también descrita con otras *Chenopodiaceas*.

Se ha descrito un caso de alveolitis alérgica extrínseca por inhalación de polvo de espinaca, utilizada como tinte en los alimentos. El paciente desarrolló una enfermedad grave con fiebre y disnea y con trastorno restrictivo severo en las pruebas respiratorias. El diagnóstico se confirmó con la demostración de anticuerpos IgG2 en el suero del paciente⁷.

En el paciente estudiado se ha demostrado la hipersensibilidad a la espinaca deshidratada que se utiliza para enriquecer las harinas integrales, mezclándola con la harina en el proceso de facturación de la misma.

Se ha demostrado la presencia de mecanismo mediado por IgE, *in vivo*, mediante las pruebas cutáneas positivas, con controles negativos y la prueba de provocación nasal con el alérgeno sospechoso que fue positiva en nuestro paciente a una baja concentración.

Se ha demostrado la existencia de IgE específica en el suero del paciente y la aparición en el SDS-PAGE *Immunoblotting* de una banda fijadora de IgE de unos 30

kDa al enfrentar el suero de nuestro paciente con el extracto de espinaca.

El paciente mejoró al utilizar mascarilla en el trabajo y en la actualidad no está en contacto con la sala de la panadería donde se mezcla la harina con el polvo de espinaca. Así se mantiene asintomático, sin tratamiento desde el punto de vista nasal y bronquial.

El paciente, en todo momento, ha tolerado la ingesta de espinaca cruda y cocinada, así como de pan y bollería. No existen otros casos entre los compañeros de trabajo del paciente, a pesar de la utilización frecuente de este vegetal como complemento a las harinas, por el aumento de la demanda de pan integral.

Por lo tanto, hemos de recordar que la sensibilización a otros vegetales utilizados en la masa del pan puede ser causa de asma ocupacional por antígenos ocultos y poco frecuentes.

En resumen, se trata de un caso de rinoconjuntivitis y asma bronquial debido a la manipulación de espinaca deshidratada en la masa de pan. Se ha demostrado como mecanismo responsable el mediado por IgE, por medio de

prick-test, determinación de IgE específica y la determinación de una proteína fijadora de una masa molecular de unos de 30 kDa en SDS-PAGE Immunoblotting.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Von Distoek HAE, Roux DJ. Sensitisation to flour an flour illness among flour workers. *J Hyg* 1939; 39: 674.
2. Bush RK, Schroekenstein D, Meier-Davis S, Balmes J, Rempel D. Soybean flour asthma: detection of allergenes by immunoblotting. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 251-255.
3. Fraj Lázaro J, Quirce Gancedo S, Martín Romero C, Cuevas Agustín M, de la Hoz Caballer B, Dávila González I, et al. Reacciones de hipersensibilidad inmediata a la harina de almorta (*Lathyrus sativus*) *Rev Esp Alergol Inmunol Clin* 1991; 6: 47-51.
4. De la Hoz Caballer MB. Asma ocupacional. Asma ocupacional del ama de casa. Los alimentos como aeroalérgenos en el medio doméstico. En: Eloy Losada Cosmes, Miguel Hinojosa Macías. Editorial JR Prous Editores 1995; 5: 187-208.
5. Sánchez I, Rodríguez F, García-Abujeta, JL, Fernández L, Martín-Gil D. Oral allergy síndrome induced by spinach. *Allergy* 1997; 52: 1245-1246.
6. Maillard II, Mchet L, Meurisse Y, Garot D, Toledano C, Jan V, et al. Cross-allergy to latex and spinach. *Acta Derm Venereol* 2000; 80: 51.
7. Schreiber J, Muller E, Becker WM, Zabel P, Schalaak M, Amtor M. Spinach powder-induced exogenous allergic alveolitis. *Pneumologie* 1998; 52: 61-65.