

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIOS CLÍNICOS
DE NEUMONITIS
POR HIPERSENSIBILIDAD:
Espartosis, Suberosis y
Pulmón del cuidador de aves**

Àlex Roger Reig



Universidad Autónoma de Barcelona
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

ESTUDIOS CLÍNICOS DE NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD: Espartosis, Suberosis y Pulmón del cuidador de aves

Memoria presentada por
Àlex Roger Reig
para acceder al grado de Doctor
en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona

Directores de la tesis:
Dr. Ferran Morell i Brotad
Dra. M^a Jesús Cruz Carmona
Hospital Universitario Vall d'Hebrón
Universidad Autónoma de Barcelona

Barcelona, Enero de 2013

“Después de escalar una montaña muy alta,
descubrimos que hay muchas otras montañas por escalar”

Nelson Mandela

A mis queridos padres,
por estar siempre a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

La realización y publicación de los trabajos aquí presentados han sido posibles gracias a la inestimable colaboración de muchas personas. Quiero dejar constancia de mi gratitud a todas ellas y, muy especialmente:

Al **Dr. Ferran Morell**, excelente médico y extraordinaria persona. Mi "jefe" para siempre. Le agradezco su capacidad docente, su permanente estímulo, su exigencia, su comprensión y, muy especialmente, su permanente confianza en mí.

A la **Dra. M^a Jesus Cruz**, por su amistad, su paciencia, su capacidad de trabajo y su ayuda incondicional; sin su apoyo, con absoluta certeza, las publicaciones que constituyen esta tesis no hubieran sido posibles.

Al **Dr. Xavier Muñoz**, por su incondicional colaboración, su cercanía, su capacidad para transmitir entusiasmo y pasión por el trabajo y ... ¡por todas las pruebas de provocación bronquial específicas realizadas!

A todos los restantes **miembros del Servei de Pneumologia del Hospital Vall d'Hebrón**, a quienes debo una eterna gratitud por sus enseñanzas y por su ejemplo constante de respeto y humanidad con los pacientes.

A la **Dra. Susana Gómez, M^a Dolores Untoria y Leire Alcantara**, mis compañeras durante muchos años en la Unitat de Recerca, por su simpatía, entusiasmo y amistad.

A la **Dra. Cristina Murio**, por su intenso y valioso trabajo en la gestación inicial del trabajo de revisión de la serie de pacientes afectos del pulmón del cuidador de aves.

A las secretarias del Servei de Pneumologia, **Rosa Llòria, Montse Murillo y Maite Valdeolivas**, por su inestimable ayuda y cariño.

Al **Dr. Josep Lluís Marín**, por haberme escogido en su momento para formar parte del Servicio de Neumología del Hospital Dos de Maig de Barcelona, y también por sus siempre sabios consejos.

A la **Dra. Rosa Montoliu**, por depositar su confianza en mí durante los primeros años de andadura del Servicio de Neumología del Hospital de Sant Joan Despí Moisès Broggi.

A todos **mis compañeros neumólogos, médicos adjuntos y residentes**, con los que he compartido trabajo durante mi trayectoria profesional, por sus enseñanzas y su complicidad.

A todos los **pacientes**, porque, sin duda, ellos son los involuntarios protagonistas de esta tesis.

ABREVIATURAS

- **BPQ:** biopsia pulmonar quirúrgica
- **BTB:** biopsia transbronquial
- **ELISA:** análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas.
- **EPI:** enfermedad pulmonar intersticial
- **ESP:** espartosis
- **FPI:** fibrosis pulmonar idiopática
- **HR:** hazard ratio (razón de riesgo)
- **HVH:** Hospital Universitari Vall d'Hebrón
- **LBA:** lavado broncoalveolar
- **NH:** neumonitis por hipersensibilidad
- **NID:** neumonía intersticial descamativa
- **NINE:** neumonía intersticial no específica
- **NIU:** neumonía intersticial usual
- **NO:** neumonía organizada
- **OR:** odds ratio
- **PCA:** pulmón del cuidador de aves
- **PCEHI:** pruebas cutáneas específicas de hipersensibilidad inmediata
- **PCHR:** pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada
- **PFR:** pruebas funcionales respiratorias
- **PPBE:** prueba de provocación bronquial específica
- **SBR:** suberosis
- **TC:** tomografía computerizada
- **TCAR:** tomografía computerizada de alta resolución

ÍNDICE

	Pág.
Justificación de la presente tesis doctoral.....	15
Introducción.....	19
Publicaciones.....	27
1. Morell F, Roger À, Cruz MJ, Rodrigo MJ. <i>Suberosis: clinical study and new etiologic agents in a series of eight patients.</i> Chest 2003; 124: 1145-52.....	27
2. Morell F, Roger À, Reyes L, Cruz MJ, Murio C, Muñoz X. <i>Bird fancier's lung: a series of 86 patients.</i> Medicine 2008; 87: 110-30	37
Anexo.....	61
Cruz MJ, Morell F, Roger À, Muñoz X, Rodrigo MJ. <i>Neumonitis por hipersensibilidad en los yeseros de la construcción (espartosis): estudio de 20 casos.</i> Med Clin (Barc) 2003; 120 (15): 578-83	61
Discusión.....	69
Conclusiones	95
Bibliografía	99
Resumen.....	111
Summary.....	115
Comunicaciones a congresos, publicaciones y subvenciones	119

JUSTIFICACIÓN DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

Neumonitis por hipersensibilidad (NH) es el término más comunmente utilizado en la actualidad para describir a una enfermedad previamente más conocida como alveolitis alérgica extrínseca. En realidad, este nombre engloba a un grupo de enfermedades producidas por la exposición (e inhalación) a diferentes sustancias orgánicas, que se caracterizan por la presencia de una reacción inflamatoria, en individuos susceptibles, que tiene lugar a nivel de alveolos, bronquiolos e intersticio pulmonar; con un marcado componente linfocítico-histiocitario o monocítico-macrofágico¹. Aunque la gran mayoría de antígenos son partículas orgánicas, algunos compuestos químicos (p.ej: isocianatos o zinc) pueden actuar como haptenos que se unen a la albúmina del huésped para crear una partícula antigénica. En cualquier caso, si bien similares, las características epidemiológicas, las manifestaciones clínicas y los resultados de las exploraciones complementarias realizadas para su estudio pueden ser algo diferentes entre los pacientes con distintas formas de NH.

La incidencia y prevalencia de las diferentes formas de NH a nivel mundial puede ser mayor o menor en función de variables geográficas como son las condiciones climáticas o el grado de desarrollo de diferentes actividades económicas como la ganadería, la industria del corcho, ... etc. De hecho, su diferente prevalencia en función del sexo de los pacientes puede traducir distintos patrones de exposición a los antígenos en los diferentes países². En un estudio poblacional desarrollado en Nuevo México³ -territorio geográfico con un ambiente seco poco propicio para el desarrollo de muchas formas de NH-, la incidencia anual de EPI fue de 30 por cada 100000 habitantes y las NH representaron un 2% de éstas . En el ámbito de España, las NH ocupan el 5º lugar (6.6% de casos) en el listado de las EPI más frecuentemente diagnosticadas, según el registro del Grupo Español de Enfermedades Pulmonares Intersticiales⁴, detrás de la FPI, la sarcoidosis, la NO y las EPI asociadas a colagenosis. Más concretamente, en el Hospital Universitari Vall d'Hebrón (HVH) de Barcelona, las NH representaron el 15% de las 500 EPI diagnosticadas en la consulta externa monográfica de estudio de estas enfermedades del Servicio de Neumología entre los años 1995 y 2004⁵. Estas enfermedades, además, pueden ser potencialmente graves; como muestra de ello, una muy reciente publicación pone de manifiesto que 878 muertes entre los años 1968

y 2008 (una media de 22 muertes por año) fueron atribuidas a diferentes formas de NH en Inglaterra y Gales, según datos de la Oficina Nacional de Estadística⁶.

Entre todas las diferentes formas de NH, el pulmón del granjero es probablemente la entidad más conocida históricamente a nivel mundial. Publicaciones recientes como la del Registro Nacional Checo de Enfermedades Ocupacionales ponen de manifiesto que ésta sigue siendo la NH más prevalente en algunos países⁷, si bien su incidencia parece haberse reducido en los últimos años en algunos otros, tras la instauración de métodos novedosos en la recolección y almacenaje del heno⁸.

Pese a que el pulmón del cuidador de aves (PCA) lo desarrollan únicamente un bajo porcentaje de las personas expuestas a aves (debido a una conjunción de factores ambientales y genéticos predisponentes), parece que esta entidad, en la actualidad, es la predominante en muchos países. Así, en una serie de 85 pacientes con NH estudiada en la Clínica Mayo entre los años 1997 y 2002 publicada en el año 2007⁹, las causas más frecuentes de estas NH fueron: los antígenos aviares ó PCA (34%), el *Mycobacterium avium* en el pulmón del baño turco -"spa" ó "hot tube"- (21%), el pulmón del granjero (11%) y la exposición doméstica a hongos (9%). En otra serie recientemente publicada de 21 pacientes con NH estudiados en un hospital de Pekín (China) entre 1983 y 2007, la primera causa de éstas fue también la exposición a aves en el domicilio (28.6%)¹⁰.

En el ámbito de nuestro país, el PCA es, probablemente también, la NH más frecuentemente diagnosticada. Aunque frecuentemente se asocia esta enfermedad a los colombófilos cuidadores de palomas -con prevalencias descritas en diferentes estudios que oscilan entre el 8 y el 30%^{11,12}, su frecuente diagnóstico en nuestro país se debe probablemente también a la extendida costumbre en España de tener algún tipo de ave en el domicilio. De hecho, en uno de los estudios presentados en esta tesis, hemos descrito que hasta un 9% y un 24% de la población control de un hospital de Catalunya afirmó tener o haber tenido en el pasado, respectivamente, contacto con algún tipo de ave/s en su domicilio¹³. Y ya desde hace años, además, se había descrito una prevalencia de PCA entre personas expuestas a periquitos que oscila entre el 0.5% y el 7.5%¹⁴.

Otros dos tipos de NH que no infrecuentemente se diagnostican en nuestro país son la espartosis, característica de los trabajadores de la construcción que manipulan yeso en su actividad laboral diaria, y la suberosis, la cual desarrollan característicamente los trabajadores que participan en la manufacturación de productos de

corcho. En relación con ésta última, es importante destacar que España es el segundo productor mundial de corcho, tras Portugal. Sin embargo, pese a la importancia de la industria del corcho en España, existen pocos estudios epidemiológicos¹⁵ o casos esporádicos publicados^{16,17} sobre esta entidad, especialmente si se compara con los publicados por autores portugueses¹⁸.

El Servicio de Neumología del HVH de Barcelona, acumula una amplia experiencia y prolongada dedicación al estudio de las NH más frecuentemente diagnosticadas en nuestro país (espartosis, suberosis y pulmón del cuidador de aves), habiéndose convertido en referente, no sólo nacional sino también internacional, para el estudio de estas enfermedades.

Esta tesis por compendio de publicaciones está constituida por 2 exhaustivos trabajos de revisión, retrospectivos, que engloban a 8 y 86 pacientes afectados de suberosis¹⁹ y pulmón del cuidador de aves¹³, respectivamente. Así mismo, se incluye, como anexo, una tercera revisión de 20 pacientes con espartosis²⁰. Con la información presentada en todos ellos, se pretende aportar a la bibliografía internacional la amplia experiencia acumulada en el Servicio de Neumología del HVH en el campo del estudio, diagnóstico, y seguimiento de pacientes con NH.

Algunos aspectos diferenciales de estas tres publicaciones respecto a las existentes sobre este campo en la bibliografía internacional, y que constituyen sus principales aportaciones, son los siguientes: **a)** identificación de nuevos agentes etiológicos en las tres entidades estudiadas; **b)** descripción de características de presentación clínica inicial, evolución y pronóstico diferenciales entre ellas; **c)** confirmación diagnóstica y etiológica de la gran mayoría de los casos mediante prueba de provocación bronquial específica (considerada por algunos la exploración "gold standard" en el diagnóstico de estas enfermedades); **d)** evaluación del rendimiento diagnóstico y seguridad no sólo de una sino de todas las exploraciones diagnósticas utilizadas en el estudio de las NH (pruebas funcionales respiratorias, Rx tórax, TC torácica, biopsia transbronquial, lavado broncoalveolar, biopsia pulmonar quirúrgica, determinación sérica de anticuerpos IgG específicos, pruebas cutáneas específicas de hipersensibilidad inmediata, pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada y pruebas de provocación bronquial específica) y **e)** descripción de las características epidemiológicas, manifestaciones clínicas y resultados de las exploraciones diagnósticas, de la más amplia serie de pacientes con PCA (n=86) publicada en la bibliografía internacional.

INTRODUCCIÓN

Pese a que las neumonitis por hipersensibilidad (NH) son entidades clínicamente ya bien conocidas, lo cierto es que actualmente no existe una definición clara y universalmente aceptada. Un grupo de expertos definió en los últimos años a las neumonitis por hipersensibilidad como una “enfermedad pulmonar con síntomas de disnea y tos secundaria a la inhalación de un antígeno frente al cual el paciente se ha sensibilizado previamente”²¹. Otra definición previamente sugerida²², entre otras, es: “una NH es una respuesta inmune inapropiada a antígenos inhalados que causa disnea, que cursa con un defecto pulmonar restrictivo e infiltrados intersticiales en las pruebas de imagen pulmonares (Rx de tórax y TCAR), y en la que se comprueba una acumulación de un gran número de linfocitos T activados en los pulmones. La enfermedad se caracteriza, en ocasiones, por episodios de fiebre a las pocas horas después de la exposición”.

Aunque sigue existiendo cierta confusión respecto a la forma de clasificar las NH, las formas de presentación clínica de estas enfermedades han sido clásicamente diferenciadas en aguda, subaguda y crónica²³. En la forma aguda predominan los síntomas pseudo-gripales, con escalofríos, fiebre, sudoración, mialgias, cefalea y náuseas, que se inician 2-9 horas tras la exposición, alcanzan su pico entre 6 y 24 horas después y pueden persistir hasta horas o días después; los síntomas respiratorios tales como la tos y la disnea son comunes pero no están siempre presentes. La forma subaguda puede aparecer gradualmente a lo largo de muchos días o semanas, se caracteriza por la presencia de tos y disnea, y puede progresar hasta una disnea severa con presencia de cianosis que puede requerir atención en un servicio de UCIA. La forma crónica tiene un inicio insidioso a lo largo de un periodo de meses o incluso años, con aparición progresiva de una disnea de esfuerzo, pudiendo acompañarse de fatiga y una pérdida progresiva también de peso, que pueden ser los síntomas predominantes. La distinción de estos estadios es a menudo difícil, puesto que en realidad suelen representar diferentes manifestaciones de una misma enfermedad, las cuales pueden estar más relacionadas con el patrón de exposición antigénica que con el antígeno causal en sí mismo. Más recientemente, se ha propuesto una nueva clasificación²⁴, todavía no prospectivamente validada, que sugiere agrupar a los pacientes en 2 grupos; los pacientes del primer grupo tendrían más síntomas

sistémicos recurrentes (escalofríos, mialgias, ...) y Rx de tórax normal y los del segundo grupo mostrarían más frecuentemente acropaquias, hipoxemia, un trastorno ventilatorio restrictivo en las PFR y fibrosis en la TCAR (ambos grupos presentarían con la misma frecuencia opacidades nodulares en la TCAR).

Un muy amplio número de antígenos, frecuentemente de origen fúngico, han sido descritos como agentes etiológicos de las diferentes formas de NH²⁵. Algunas de estas entidades, distintas a las que constituyen esta tesis, son las siguientes:

Enfermedad	Fuente antigénica	Antígeno
Pulmón del granjero	Heno enmohecido	<i>Sacharopolyspora rectivirgula</i> , <i>Thermoactinomyces vulgaris</i> , <i>Aspergillus flavus / fumigatus</i>
Pulmón del acondicionador de aire	Acondicionadores, humidificadores	Actinomicetos termofílicos, bacterias termotolerantes, protozoos
Pulmón del nácar	Conchas marinas, botones, perlas	Proteínas
Pulmón del cuidador de seta	Setas en cultivo	<i>Sacharopolyspora rectivirgula</i> , <i>Thermoactinomyces vulgaris</i>
Pulmón del limpiador de embutidos (Chacinero's lung)	Embutidos humedecidos	Penicillium sp, Aspergillus sp.
Pulmón de los peleteros	Pieles de astracán y zorro	Polvo de la piel
Pulmón de los operarios de maquinaria ("Metal working fluid")	Fluidos lubricantes (taladrinas) y refrigerantes	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Mycobacterium immunogenum</i> <i>Aspergillus niger</i> , ...
Pulmón del baño turco	Spray de agua caliente	<i>Mycobacterium avium complex</i> , otras micobacterias, <i>Cladosporium sp.</i>
Pulmón de los insecticidas	Insecticidas	Piretroides

Enfermedad	Fuente antigénica	Antígeno
Pulmón de la soja	Polvo de soja	Proteínas de la soja
Pulmón del humidificador ultrasónico casero	Agua del humidificador contaminada	<i>Cephalosporium acremonium</i> , <i>Candida albicans</i>
Pulmón de los tomadores de sauna	Agua de lago contaminada	<i>Aureobasidium</i> sp.
Pulmón de los trabajadores del café	Grano de café	Polvo de café
Enfermedad por metales duros (neumonitis interstic. a cél. gigantes)	Cobalto + wolframio en metalurgia	Cobalto + wolframio

El número de nuevas entidades y agentes etiológicos descritos está en constante aumento y en los últimos años siguen describiéndose en la literatura internacional nuevas formas y agentes desencadenantes de NH: asociada al uso de plancha de vapor²⁶, por inhalación de *Aspergillus niger* en cultivadores de rosas²⁷, por exposición a fitasa en la industria alimentaria de ganado²⁸, por exposición doméstica a *Candida* sp²⁹, por exposición a polvo de embutido seco³⁰ (por exposición a *Penicillium frequentans* o quizás a otros hongos), por inhalación de excrementos de estornino³¹, NH del saxofonista (por inhalación de hongos que colonizan dicho instrumento)³², por exposición a conglomerado de densidad media³³. . . etc, lo que traduce la extendida incidencia de este tipo de enfermedades en la población mundial y el interés que éstas despiertan entre el colectivo de profesionales médicos que las diagnostican y tratan.

En relación con las formas de NH estudiadas aquí, es decir, con la espartosis, la suberosis y el pulmón del cuidador de aves, los agentes etiológicos más frecuentemente identificados en la bibliografía como responsables de las mismas han sido *Aspergillus fumigatus*³⁴ (que contamina al esparto), *Penicillium frequentans*³⁵ (que contamina al corcho enmohecido), algunas proteínas séricas aviares (gammaglobulinas y albumina), y la IgA, la IgG y la mucina intestinal de paloma que están presentes en los excrementos y en el polvillo descamado de las palomas (conocido en inglés como “bloom”)³⁶⁻³⁹, respectivamente. Sin embargo, diversos estudios, previos a los aquí presentados, habían sugerido que otros agentes, fundamentalmente fúngicos, podrían tener también un posible pa-

pel etiológico en la espartosis (p.ej: *Thermoactynomices vulgaris*^{40,41}, *Saccharopolyspora rectivirgula*)^{40,41}, *T. sacchari*⁴¹, *Penicillium* sp⁴², fibras de esparto^{34,42}) y en la suberosis (p.ej: *Penicillium glabrum*⁴³, *Chrysonilia sitophila*⁴³). Respecto al PCA, la mayoría de casos se han descrito tras exposición a palomas o a aves de la familia de las Psittaciformes como cacatúas, tórtolas, carolinas ó periquitos; más esporádicamente se han descrito casos secundarios a la exposición a aves de corral como pollos, pavos, gansos o patos⁴⁴. Finalmente, aunque menos conocidos, también se han diagnosticado casos de PCA desarrollados tras la exposición a plumas de pato, oca o ganso presentes en almohadas o edredones, casos denominados por algunos autores como “pulmón del edredón de plumas”⁴⁵, del cual recientemente nuestro grupo ha comunicado una larga serie de 28 pacientes (“Neumonitis por hipersensibilidad por edredón de plumas. Descripción de una serie”. 45 Congreso Nacional SEPAR. Madrid, Junio 2012).

El todavía frecuente retraso diagnóstico que se observa en estas enfermedades sigue siendo a día de hoy un caballo de batalla crucial contra el que hay que poner todos los medios necesarios, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes y mejorar el pronóstico de su enfermedad. A él contribuyen, sin duda, diferentes aspectos tales como: **a)** conocimiento insuficiente de estas enfermedades y bajo índice de sospecha de las mismas por parte de los profesionales médicos, **b)** desconocimiento frecuente por parte de los trabajadores con exposiciones de riesgo y de sus directivos sobre las posibles enfermedades que pueden derivarse de su actividad laboral, **c)** dificultad de establecer una relación causa-efecto entre los síntomas del paciente y la exposición al agente causal de los mismos, al presentarse los primeros generalmente horas después de dicha exposición, **d)** existencia de diferentes formas de presentación (aguda, subaguda ó crónica), algunas de las cuales pueden confundirse con otras enfermedades, **e)** no disponibilidad en muchos de los centros donde consultan los pacientes de todas las exploraciones complementarias y técnicas diagnósticas necesarias para el estudio de las NH, **f)** ausencia de un algoritmo o protocolo diagnóstico estandarizado y reconocido por todos los centros donde se estudian estas enfermedades, **g)** ausencia de unos criterios diagnósticos precisos, universalmente reconocidos y aceptados, **h)** escasa generalización de la práctica de las pruebas de provocación bronquial específicas y **i)** posible etiología múltiple o multifactorial en algunas formas de NH.

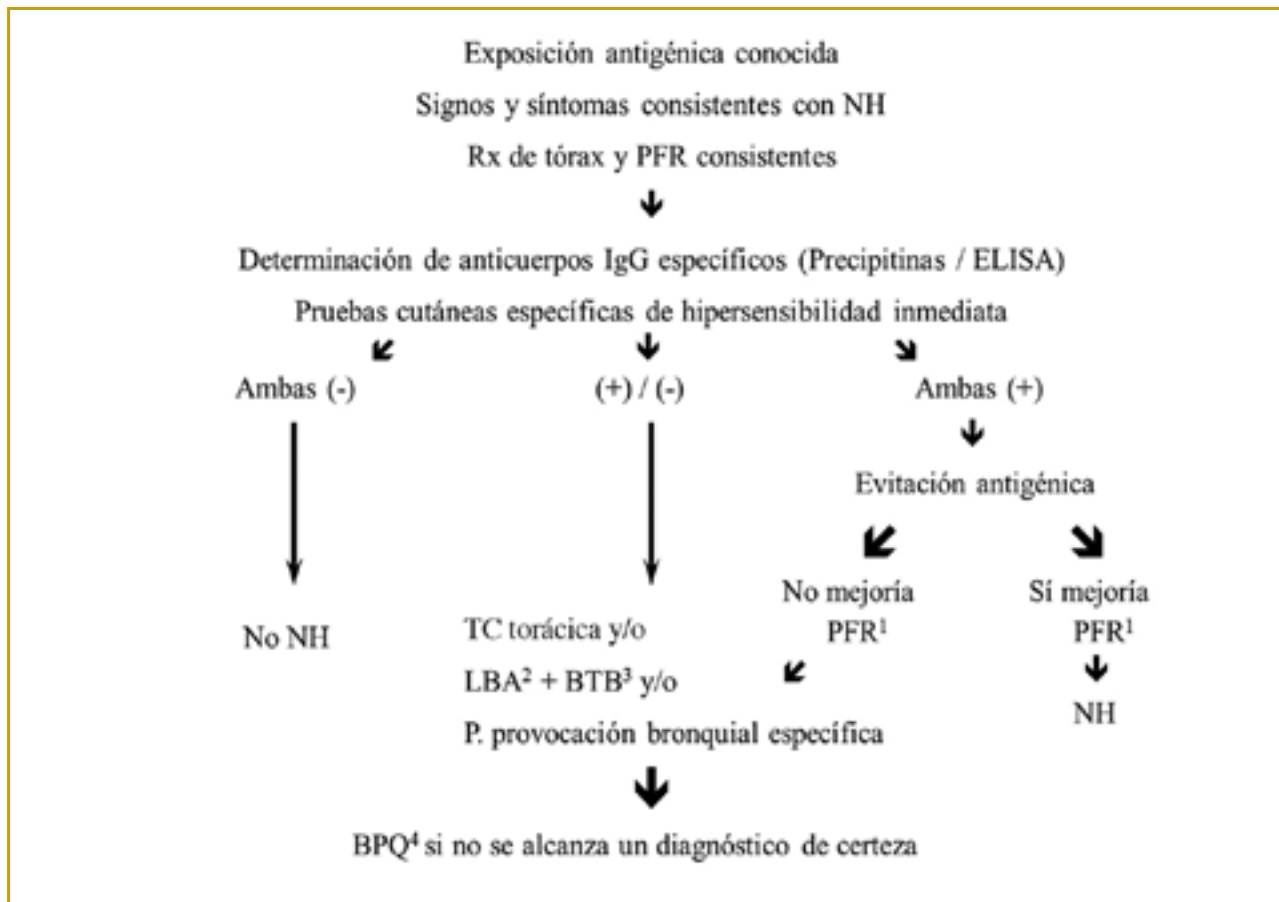
Profundizando algo más en uno de los puntos mencionados, uno de los aspectos más determinantes en el infradiagnóstico de las NH son, precisamente, sus criterios diagnósticos, diferentes según las propuestas de distintos autores, y ningunos de ellos validados. Los criterios diagnósticos más históricamente utilizados en el pa-

sado habían sido los siguientes²³: historia clínica, exploración física y función pulmonar compatibles con EPI, Rx de tórax consistente, exposición a una causa reconocida y presencia de anticuerpos frente a ese antígeno. En 1997, y según opinión de algunos expertos⁴⁶, se establecen 6 criterios diagnósticos mayores (síntomas compatibles con NH, evidencia por historia clínica de exposición a un antígeno o detección de anticuerpos específicos en suero o lavado broncoalveolar, hallazgos compatibles en Rx tórax y/o TCAR de tórax, linfocitosis en el LBA, demostración de cambios histológicos consistentes con NH y/o prueba de provocación “natural” positiva) y 3 menores (crepitanes en la auscultación respiratoria, disminución de la capacidad de difusión pulmonar y presencia de hipoxemia arterial en reposo o ejercicio), pudiendo confirmarse el diagnóstico si se cumplen ≥ 4 criterios mayores y ≥ 2 criterios menores. La confirmación de una mejoría tras una continuada evitación de exposición al agente causal es otro criterio a tener en consideración⁴⁷. Por otra parte, sin embargo, algunos de estos mismos autores⁴⁷ aceptan que el diagnóstico puede establecerse en la práctica clínica diaria con unos criterios menos rígidos: síntomas clínicos característicos, exposición a un antígeno conocido y mejoría clínica tras la evitación antigénica. Posteriormente, en 2003, un grupo de expertos²¹ concluye que puede sostenerse el diagnóstico de NH en un 98% de casos cuando se cumplen 6 criterios diagnósticos, a cada uno de los cuales asigna individualmente un valor predictivo de tener una NH en forma de *odds ratio* (OR): exposición a un conocido antígeno causal (OR: 38.8), síntomas 4-8 horas tras exposición a un agente causal (OR: 7.2), anticuerpos precipitantes positivos (OR: 5.3), crepitanes inspiratorios (OR: 4.5), episodios recurrentes de síntomas (OR: 3.3) y pérdida de peso (OR: 2). Finalmente, en 2007, otro grupo⁹ propone los siguientes criterios: presencia de síntomas respiratorios, evidencia radiológica de enfermedad pulmonar difusa, conocida exposición o prueba serológica positiva frente a un antígeno causal y ausencia de otra causa de enfermedad pulmonar; en ausencia de un antígeno causal identificable se requiere la presencia de ≥ 1 de los siguientes 2 criterios: biopsia pulmonar compatible con NH ó linfocitosis en el LBA más evidencia de áreas en vidrio deslustrado o nódulos centrolobulillares bilaterales en la TCAR torácica. Parece razonable pensar, ante todas estas propuestas, que la confirmación o no del diagnóstico de un caso de NH puede depender, en algunas ocasiones, de la mayor o menor rigurosidad del médico responsable en la aplicación de todos estos criterios.

Los pacientes incluidos en todos los trabajos aquí presentados se diagnosticaron tras seguir un mismo algoritmo diagnóstico (ver figura 1), cuyo diseño permite evaluar, de forma sistematizada, si se cumplen o no todos los criterios diagnósticos establecidos por los expertos anteriormente mencionados.

FIGURA 1

Algoritmo diagnóstico utilizado en los estudios presentados, para el estudio de las neumonitis por hipersensibilidad (NH)



¹ Mejoría en las pruebas funcionales respiratorias: incremento > 20% en FVC, FEV1 y/o DLCO.

² LBA: lavado broncoalveolar.

³ BTB: biopsia transbronquial.

⁴ BPQ: biopsia pulmonar quirúrgica.

Por este motivo, en los 3 estudios, se describen los resultados obtenidos en las diferentes exploraciones complementarias que conforman el algoritmo diagnóstico seguido en nuestro centro (Rx tórax, TC/TCAR torácica, PFR, pruebas cutáneas específicas de hipersensibilidad inmediata, determinación sérica de anticuerpos IgG específicos, lavado broncoalveolar, biopsia transbronquial, pruebas de provocación bronquial específicas, biopsia

pulmonar quirúrgica) así como los de algunas otras realizadas que no se incluyen en el algoritmo descrito (resultados analíticos, pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada).

Un aspecto que está suscitando, sin duda, un interés creciente en los últimos años es el pronóstico a largo plazo de las NH. Es conocido desde hace ya tiempo que la persistencia de una exposición continuada al agente causal comporta un peor pronóstico de la enfermedad⁴⁸. Pero no ha sido hasta más recientemente cuando en diferentes publicaciones se ha descrito la potencial progresión de esta enfermedad hacia cuadros de fibrosis pulmonar bien establecida^{44,49-53}, con aparición de imágenes características de afectación intersticial severa en la TC torácica^{54,55} y desarrollo de graves trastornos ventilatorios restrictivos en las PFR. En las series estudiadas se describen, no sólo los síntomas que presentaban los pacientes en el momento del diagnóstico, sino también la fase de la enfermedad (aguda, subaguda o crónica) en que éste se alcanzó y la evolución clínica que presentaron aquellos que pudieron seguirse en nuestro centro. Se han podido evidenciar algunas diferencias en la forma de presentación y en la evolución de las 3 enfermedades, condicionadas principalmente por el tiempo de evolución y severidad de la misma en el momento del diagnóstico.

Como aspecto relevante a destacar, probablemente la mayor virtud de estas 3 series de NH es el hecho de que las conclusiones que pueden extraerse de ellas adquieren mayor consistencia al haberse realizado pruebas de provocación bronquial específicas a 73 (64%) de los 114 pacientes incluidos en los 3 estudios y al haberse obtenido un diagnóstico etiológico de certeza en 65 (57%) del total de estos 114 pacientes. Sin duda, esta confirmación clínica y etiológica precisa, obtenida en la mayor parte de los pacientes estudiados, permite evaluar con más garantías la utilidad del resto de exploraciones en el estudio de estas enfermedades.

En definitiva, se presentan 3 series de pacientes de 20, 8 y 86 pacientes afectados de espartosis²⁰, suberosis¹⁹ y PCA¹³, respectivamente, que traducen una amplia experiencia del equipo investigador en este campo.

Los objetivos de estos 3 estudios fueron los siguientes:

- I. Aportar a la literatura internacional la prolongada experiencia del Servei de Pneumologia del HVH en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con NH, mediante la revisión retrospectiva de 3 series de pacientes. La serie de la espartosis es la más amplia (n=20) de las publicadas hasta la fecha en la literatura internacional, la de la suberosis también es la más amplia (n=8) de las publicadas hasta la fecha en la literatura nacional (n=8) y la del pulmón del cuidador de aves es, igualmente, la más amplia (n=86) de las publicadas hasta el momento.

2. Describir las características clínico-epidemiológicas de estas 3 formas de NH e identificar eventuales aspectos diferenciales entre ellas, así como evaluar el pronóstico a medio-largo plazo de las mismas.
3. Revisar y evaluar la rentabilidad diagnóstica no sólo de alguna, sino de todas las diferentes exploraciones complementarias utilizadas en el estudio de estas enfermedades (PFR, Rx tórax, TC torácica, lavado broncoalveolar, biopsia transbronquial, pruebas inmunológicas “in vitro” e “in vivo”, pruebas de provocación bronquial específicas, ... etc).
4. Muy especialmente, revisar y evaluar la rentabilidad diagnóstica y la seguridad de las pruebas de provocación bronquial específicas en el diagnóstico de las NH.
5. Poner de manifiesto la necesidad de seguir un algoritmo diagnóstico sistemático y racional, basado en las evidencias publicadas en la literatura internacional, en el estudio de las NH.
6. Esclarecer el eventual papel etiológico de los diferentes hongos contaminantes del esparto y del corcho, así como el del material corcho o el del esparto por sí mismos, en la etiología de la espartosis y la suberosis.

**PUBLICACIONES
(1)**

**SUBEROSIS:
CLINICAL STUDY AND NEW ETIOLOGIC AGENTS
IN A SERIES OF EIGHT PATIENTS**

Morell F, Roger À, Cruz MJ, Rodrigo MJ.

Chest 2003; 124: 1145-52

Background: *Penicillium frequentans* is considered to be the causal agent of suberosis, hypersensitivity pneumonitis due to cork dust inhalation. Nevertheless, other fungi can colonize cork during its storage period in humid conditions. The aims of the study were to assess the etiologic role of several fungi and cork itself in the genesis of suberosis, and to review the clinical characteristics of patients with this disease.

Methods: Eight patients with suberosis were studied. Chest radiography, high-resolution chest CT, pulmonary function testing, bronchofibroscopy with BAL and transbronchial biopsy, and delayed cutaneous hypersensitivity tests were performed. Fungal and suberin (cork that is culture negative for fungi) antigens were used for serum determination of specific IgG antibodies, immediate hypersensitivity specific skin tests, and specific bronchial challenge tests.

Results: Serum specific IgG antibody determinations and specific skin tests against *Aspergillus fumigatus* and suberin demonstrated the capacity of both these antigenic extracts to induce an immunologic response. Positive specific bronchial challenge tests performed not only with *P frequentans* but also with *A fumigatus*, and cork itself were recorded in some patients for the first time in this disease. Dyspnea and cough were the most frequent symptoms. Clinical and functional improvement occurred after antigen avoidance.

Conclusions: In addition to *P frequentans*, *A fumigatus* and cork dust itself may contribute to the development of suberosis. (CHEST 2003; 124:1145–1152)

Key words: *Aspergillus fumigatus*; hypersensitivity pneumonitis; suberosis

Abbreviations: DLCO = diffusion capacity of the lung for carbon monoxide; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; TBB = transbronchial biopsy

Cork is a light, porous, impermeable material extracted from the bark of some trees. The most widely used cork is obtained from the cork tree (*Quercus suber*), owing to its greater thickness. The

processes used in the manufacture of cork depend on the end product to be obtained. "Natural" stoppers (wine bottle corks) are made from bark that is boiled, stored under dark humid conditions until moldy, sliced, punched, and polished. Cork compounds made from ground bark are used as parquet flooring, wallpaper, wall coverings, shoe soles, life belts, champagne corks, and panels for industrial soundproofing, etc. During the manufacturing process, workers are exposed to an environment that is heavily contaminated with cork dust. The world production of cork is centered in the south of Europe, with Spain being the second most important producer after Portugal.

Suberosis was first described in 1955 by Cancellà d'Abreu.¹ In any event, different respiratory and

*From Servei de Pneumologia (Drs. Morell, Roger, Muñoz, and Ms. Cruz), Unitat d'Investigació en Pneumologia & Laboratori Clínic-Unitat Immunologia (Dr. Rodrigo), Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain.

This study was financed in part by grant FISS 90/0941, and Red Respira (Instituto Carlos III, Fís RTYC-C03/11), SEPAR. Manuscript received July 16, 2002; revision accepted January 27, 2003.

Reproduction of this article is prohibited without written permission from the American College of Chest Physicians (e-mail: permissions@chestnet.org).

Correspondence to: Ferran Morell, PhD, Servei de Pneumologia, Hospital General Vall d'Hebron, Passeig Vall d'Hebron, 119-129, 08035 Barcelona, Spain; e-mail: fmorell@hg.chebron.es

occupational diseases ranging from bronchial asthma to chronic bronchitis²⁻⁴ have been related to cork dust exposure and associated microbial contaminants. *Suberosis* is the term applied to hypersensitivity pneumonitis due to cork dust inhalation. It is the most well-known respiratory disease attributable to cork exposure in Spain. Despite the importance of the Spanish cork industry, there are few epidemiologic⁵ or sporadic studies^{6,7} on this subject, particularly as compared to those published by Portuguese authors.²

In early works, researchers²⁻⁵ detected precipitins to cork dust and later to *Penicillium frequentans* in serum of cork workers. Since that time, this microorganism has been considered the causal agent of suberosis.^{1,2,8,9} During its storage period in humid conditions, however, cork is frequently colonized by other fungi such as *Aspergillus fumigatus* or *Mucor* sp; therefore, these microorganisms and even the cork dust itself may also play an etiologic role in the genesis of the disease.

The aims of this study were to assess the etiologic role of several fungi and cork in the genesis of suberosis, and to review the clinical and epidemiologic characteristics of a series of eight patients with this disease. For the first time in an study of this entity, specific skin tests, quantitative determination of specific serum antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and specific bronchial challenge tests against various fungi and/or antigenic cork extract uncontaminated by fungi have all been performed. Because of the small number of series described in the literature and the limited challenge test data, we believe that the results presented may be of interest to researchers working in this field.

MATERIALS AND METHODS

Study Population

Eight patients (five women) with a mean age (\pm SD) of 36.8 ± 9 years (range, 26 to 57 years) who fulfilled diagnostic criteria for suberosis¹⁰ were retrospectively studied. All but one of the patients received a diagnosis at our occupational respiratory disease unit between 1982 and 2000. The other patient (case 6) received a diagnosis in 1982.⁹ At the time of diagnosis, all patients were actively working in cork manufacturing industries in the province of Gerona (Catalonia) and all presented acute symptoms of hypersensitivity pneumonitis. Mean exposure time to cork dust prior to diagnosis was 9.6 years (range, 1 to 18 years). The following data were retrospectively reviewed: medical history, physical examination, general analyses, chest radiography, high-resolution chest CT scans, pulmonary function testing (spirometry, pulmonary volumes, and diffusion), bronchofibroscopy with BAL and transbronchial biopsy (TBB), delayed cutaneous hypersensitivity tests, serum determination of specific IgG antibodies (ELISA), specific immediate hyper-sensitivity skin tests

against fungal and suberin (cork culture-negative for fungi) antigens and, finally, specific bronchial challenge tests performed with these same antigens.

Antigen Extract Preparation

Cork antigenic extract (suberin) was prepared from Suborinal culture-negative cork. Soluble proteins were extracted with ammonium bicarbonate buffer 0.2 mol/L (pH 7.9) overnight at 4°C. The solution was centrifuged and the supernatant dialyzed at 4°C against distilled water using a 3,500-d pore-size membrane (Spectra/Por; Spectrum Medical Industries; Los Angeles, CA). The material obtained from the dialysate was lyophilized and the protein concentration determined by the bicinchoninic acid method (Pierce; Rockford, IL). Commercialized extracts (Bial-Aristegui; Bilbao, Spain) from *P frequentans*, *A fumigatus*, *Mucor mucedo*, and *Rhizopus nigricans* were used to study fungi.

Specific Skin Tests

Skin tests were performed by intradermal injection in the forearm of 0.1 mL of solutions (1/100 weight/volume) of the following extracts: *P frequentans*, *A fumigatus*, and suberin. Based on the role of IgG in the mediation of immediate hypersensitivity,¹¹ the appearance of a papule with a maximum diameter > 10 mm at 15 min (immediate reading) was the criterion defining a positive test result.^{12,13} Specific skin testing against *P frequentans*, *A fumigatus*, and suberin were also performed in 12 healthy individuals serving as a control group.

Determination of Specific IgG Antibodies to *P frequentans*, *A fumigatus*, *M mucedo*, *R nigricans*, and Suberin

Specific IgG antibodies to fungi and suberin were determined by an ELISA technique based on the modified method of Metzger et al.¹⁴ Concentrations of 2 μ g protein/well in Na₂CO₃/NaHCO₃ buffer (pH 9.6) were placed in high-affinity microtiter plates (Costar, Cambridge, MA) and incubated for 16 h at 4°C. Results were expressed as absorbance units at 450 nm. Values above the mean plus 2 SDs of the results obtained in a control population of 30 healthy individuals previously studied in our laboratory were considered positive.

Delayed Cutaneous Hypersensitivity Tests

Delayed cutaneous hypersensitivity tests were performed by intradermal injection in the forearm of 0.1 mL of each of the following antigen extracts solutions: candidine 1/100 weight/volume (Lab. Leti; Madrid, Spain), tuberculin (PPD Evans RT-23; Evans Medical España; Madrid, Spain), 0.1 mL = 2 tuberculin units (Medeva-Pharma S.A.; Leatherhead, Surrey, UK), trichophyton mentagrophytes 100 μ g/mL (Lab. Leti), and varidase-streptokinase 40 IU/mL/streptodermase 10 IU/mL (Lab. Lederle; Madrid, Spain). Development of a papule with a maximum diameter > 5 mm by 48 h after extract injection was considered positive.^{15,16}

Pulmonary Function Tests

Forced spirometry, static pulmonary volumes, and diffusion capacity of the lung for carbon monoxide (DLCO) were performed in eight patients, four patients, and six patients, respectively, using a MasterLab apparatus (MasterLab; Jaeger; Witzsburg, Germany). All tests were performed following European Respiratory Society guidelines.^{17,18} Static pulmonary volumes were measured using the plethysmography method, and transfer factor was

measured using the single breath-hold method.¹⁹ The theoretical values proposed by Roca et al²⁰ for the Mediterranean population were applied for spirometry, and values proposed by the European Respiratory Society for static pulmonary volumes and DLCO testing.^{17,18}

Specific Bronchial Challenge Tests

Specific bronchial challenge tests were always performed in the hospital setting and after obtaining the patient's written consent. Total blood count, chest radiography, spirometry, DLCO, and oxygen saturation determination by pulse oximetry were performed prior to the challenge tests.

Using a De Vilbiss 646 nebulizer (De Vilbiss, Somerset, PA) and a Mefar MB3 dosimeter (Mefar, Ele H₂O, Medical, Brescia, Italy), which releases the solution during the first second of each inspiration, the patient was requested to inhale 2 mL of the suspected antigen at a dilution of 1/100 (0.01 mg/mL).²¹ FVC, FEV₁, DLCO, and the patient's temperature were recorded at 20 min after the inhalation and every hour for the following 8 h thereafter. New blood counts, chest radiographs, and oxygen saturation measurements were performed 8 h after inhalation.

The test result was considered positive when any of the following responses was elicited: (1) FVC decrease > 15% or DLCO decrease > 20% as compared with basal values; (2) 10 to 15% FVC decrease plus the appearance of at least one of the following criteria with respect to clinical status and basal analytic values:^{22,23} (A) WBC increase \geq 20%, (B) 3% decrease in oxygen saturation, (C) significant radiologic changes, (D) rise in body temperature > 0.5°C, and (E) evident clinical symptoms (cough, dyspnea, . . .); and (3) FVC decrease < 10% but with evidence of three or more of the previously mentioned clinical and analytic criteria.²⁴ When the test result proved negative, inhalation of a new antigen dilution of 1/10 (0.1 mg/mL) following the same procedure was performed the next day.

Since these patients were later followed up at our center, it was also possible to collect data on their long-term clinical evolution. Similarly, control spirometry was performed to ascertain functional evolution in the five patients followed up for > 1 year.

RESULTS

Clinical Data and Test Results

Clinical data and test results are shown in Table 1. At the time of diagnosis, the patients had presented symptoms for a mean of 2.6 years (range, 0.5 to 5 years). Characteristically, symptoms began halfway through the working day or at the end of the evening shift and remitted or improved at weekends or during holidays. Evolution was highly favorable in all patients after a mean antigen avoidance period of 14.2 months (range, 4 to 26 months); 50% of patients (cases 1, 4, 6, and 8) remained asymptomatic, and 50% of patients (cases 2, 3, 5, and 7) had dyspnea only on extreme exertion. Chest radiography showed a slight interstitial pattern predominantly affecting the lower lobes in only four patients; however, high-resolution chest CT performed in seven of the eight patients revealed parenchymal changes in six patients (Fig 1).

Pulmonary function studies showed decreased

FVC (< 80%) in three patients and slightly decreased DLCO (< 80%) in two patients (this was the only functional impairment detected in case 5). In case 2, pulmonary function tests were performed after 1 year of antigen avoidance. None of the patients showed obstruction or airtrapping. Functional evolution was recorded in five patients (cases 2 to 5, and case 7) after a mean period of 17.2 months (range, 13 to 26 months) without workplace exposure. Cases 2 and 4, with initially normal respiratory function, showed no changes, whereas cases 3, 5, and 7, with initially decreased FVC and DLCO, showed normal values (FVC > 80% and DLCO > 80%) for these parameters (Fig 2).

BAL and TBB were performed in six patients and five patients, respectively, although one patient (case 2) underwent bronchofibroscopy after 1 year of antigen avoidance. BAL cell count obtained in the other five patients revealed lymphocytosis > 20% in four patients. The common characteristic of TBB (cases 2 to 5, and case 8) was the presence of an interstitial lymphohistiocytic infiltrate; neither granulomas nor bronchiolitis were detected in any case.

Specific Skin Tests

The specific skin test for *P frequentans* proved positive in three of the four patients in whom it was performed. The cork extract skin test was positive in four of five patients. *A fumigatus* tested positive in the only patient (case 7) in whom it was performed (Table 2).

In the control group, the mean maximum diameter of response was 1.4 mm (range, 0 to 7 mm), 2.6 mm (range, 0 to 12 mm), and 6.1 mm (range, 0 to 11 mm) for *P frequentans*, *A fumigatus*, and suberin, respectively. One positive result was obtained for *A fumigatus*, and one for suberin in two different healthy individuals.

Determination of Specific IgG Antibodies to *P frequentans*, *A fumigatus*, *M mucedo*, *R nigricans*, and Suberin

Specific IgG antibodies to the fungal antigens studied were determined in seven patients (Table 2), and positive results were obtained against *P frequentans* in six patients. Precipitins to this same microorganism were detected in the patient in whom specific IgG had not been determined by ELISA (case 6). Specific IgG to *A fumigatus* was positive in four of seven patients. Five patients presented specific IgG antibodies to more than one fungal antigen. Positive specific IgG antibodies against suberin antigen extract were obtained in four of six patients (Table 2).

Table 1—Clinical, Analytical, and Radiologic Characteristics of Eight Patients With Suberosis*

Patient No.	Age, yr	Sex	Smoker	Latency Period, yr	Physical Examination Findings	Symptoms	Radiography/CT Findings	Pulmonary Function Test Results	Analyses†	BAL Cells %	DCHT (Results)
1	26	Male	Yes	1	Normal	Over 1 yr: dyspnea/wheezing, cough, fever (residual improvement, evening symptoms)	Normal/airtrapping, ground glass	FVC 3.6 (104%), FEV ₁ 4.3 (111%), FEV ₁ /F 82%, DLCO 91%	Leukocytes 12,500 (10% lymphocytes) ESR 44h		
2†	37	Female	No	13	Bilateral crackles	Over 5 yr: dyspnea/wheezing, cough, fever, asthma (recurrent improvement, evening symptoms)	Normal/ground glass	KCO 54% FVC 2.7 (83%), FEV ₁ 2.2 (95%), FEV ₁ /F 81%, TLC 103%, DLCO 109%	Leukocytes 3,600 (25% lymphocytes) ESR 7h	Macrophages 9% Lymphocytes 3 Polysymphonuclear 1 CD4CD8 2	
3‡	34	Female	Ex	10	Bilateral crackles	Over 5 yr: dyspnea/wheezing, cough (expectoration), fever, asthma (symptoms at work)	Normal/airtrapping, microvascular pattern	KCO 124% FVC 2.4 (73%), FEV ₁ 2.0 (72%), FEV ₁ /F 82%, DLCO 29%	Leukocytes 4,200 (42% lymphocytes) ESR 65h	Macrophages 32 Lymphocytes 6% CD4CD8 0.4	Granulose (-) PPD-tuberculin (-) Tritophyton (-) Varidase (-)
4	32	Female	No	15	Normal	Over 2 yr: dyspnea/wheezing, cough, fever, arthralgias (recurrent improvement, symptoms at work)	Interstitial pattern/ground glass	KCO 95% FVC 3.4 (93%), FEV ₁ 3.0 (95%), FEV ₁ /F 89%, TLC 109%, DLCO 96%	Leukocytes 6,200 (40% lymphocytes) ESR 20h	Macrophages 49 Lymphocytes 45 Polysymphonuclear 3	
5	26	Female	Yes	14	Normal	Over 2 yr: dyspnea, cough, fever, asthma (residual improvement)	Interstitial pattern/airtrapping, microvascular pattern	KCO 86% FVC 3.5 (104%), FEV ₁ 2.9 (106%), FEV ₁ /F 82%, TLC 109%, DLCO 79%	Leukocytes 5,200 (26% lymphocytes) ESR 6h	Macrophages 26 Lymphocytes 42 CD4CD8 0.1	Granulose (-) PPD-tuberculin (-) Tritophyton (-) Varidase (+)
6	49	Female	No	2	Normal	Over 2 yr: dyspnea, asthma (recurrent improvement, symptoms at work)	Normal/wet clear	KCO 20% Spirometry, pulmonary volumes, and DLCO: normal values			
7	22	Male	Ex	0.5	Bilateral crackles	Over 3.5 yr: dyspnea, cough (expectoration), headache (recurrent improvement, symptoms at work)	Interstitial pattern(normal)	FVC 3.5 (104%), FEV ₁ 3.0 (74%), FEV ₁ /F 86%	Leukocytes 4,400 (27% lymphocytes) ESR 2h	Macrophages 49 Lymphocytes 15 Polysymphonuclear 3 CD4CD8 0.6	Granulose (-) PPD-tuberculin (+) Tritophyton (-) Varidase (-)
8	28	Male	Yes	0.5	Bilateral crackles	During 0.5 yr: dyspnea, cough (expectoration)	Interstitial pattern/ground glass	FVC 2.7 (83%), FEV ₁ 2.2 (71%), FEV ₁ /F 82%	Leukocytes 10,200 (16% lymphocytes) ESR 5h	Macrophages 29 Lymphocytes 49	

*KCO = DLCO/absorbed volume; TLC = total lung capacity; FEV₁/F = FEV₁/FVC; ESR = erythrocyte sedimentation rate; DCHT = delayed cutaneous hypersensitivity test; PPD = purified protein derivative.

†Pulmonary function tests and BAL were performed after 1 yr of anti-tuberculous treatment.

‡Positive reaction in the delayed cutaneous hypersensitivity test to the four antigens when these were repeated over 2 yr.

§CT (10-mm slices, not high-resolution CT) previously performed and interpreted at another medical center.

¶Leukocytes are presented as cells × 10⁶/L.



FIGURE 1. High-resolution chest CT in case 3. Patchy airtrapping (mosaic pattern) is seen on expiratory scan.

Specific Bronchial Challenge Tests

Specific bronchial challenge tests (Table 2) against different antigens were performed in seven patients according to clinical suspicion, results obtained in specific skin tests and serum determinations of specific IgG antibodies, and antigenic extract availability at the hospital laboratory. *P frequentans* was positive in three of the four patients tested with this antigen. In another patient (case 6), *P frequentans* was isolated in cork from his workplace and was used to perform his challenge test, with positive results. Positive results were also obtained in two of four of the challenge tests performed against clean cork and in the only test performed with *A fumigatus* (after testing against *P frequentans* had proved negative). In this last patient (case 2), *A fumigatus* was isolated in culture of the cork that had triggered the patient's symptoms.

DISCUSSION

The present work describes the clinical, analytic, and radiologic features, as well as immunologic test responses of a well-characterized group of patients with suberosis, and is one of very few articles published to date on this subject. The study shows that besides *P frequentans*, *A fumigatus*, and cork itself, uncontaminated by fungi, may participate in the etiopathogenesis of suberosis in some patients.

The etiology of cork dust-induced hypersensitivity pneumonitis has been attributed to the antigenic capacity of *P frequentans*.^{1,2,8,9} Its known causative role in this disease is confirmed in the present study by positive specific skin test results, specific serum IgG antibody analyses, and specific bronchial challenge tests—considered to be the “gold standard” diagnostic procedure²²—against this antigen. However, other fungi, such as *A fumigatus*, *Mucor* sp, or *Rhizopus* sp, can also be isolated in cultures of cork sheets or compounds from the work place, as occurred with *A fumigatus* in our case 2. In view of this culture result and the positive specific IgG serum determinations to these fungi, we suggest that cork workers may be exposed to various antigenic sources during the workday, and that each of these may contribute to the etiology of the disease. This concept is further supported by positive specific IgG serum antibody determinations and specific skin test results against clean cork, as well as positive skin test results against *A fumigatus* found in some patients. Additionally, and for the first time, this study presents positive results of two specific bronchial challenge tests performed against clean cork extract (cases 1 and 5) and one against *A fumigatus* (case 2), which appear to confirm the etiologic role of these agents in the development of suberosis. It is noteworthy that the functional impairment observed in the bronchial challenge tests was a drop in FVC and/or DLCO 6 to 8 h after antigen extract inhalation,

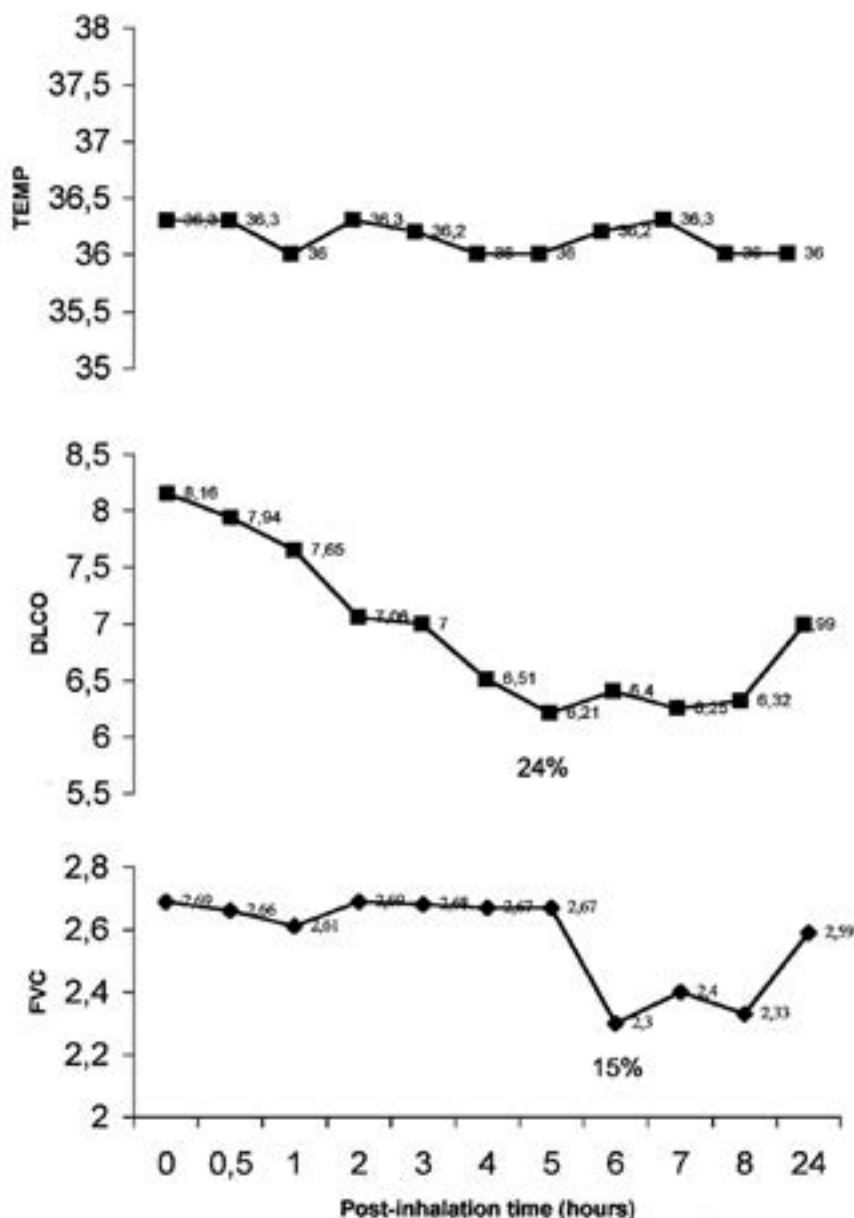


FIGURE 2. A 24% decrease in DLCO and a 15% decrease in FVC is observed between the fifth and sixth hours after inhalation of the *A fumigatus* extract in case 2. TEMP = temperature in degrees Celsius.

which is characteristic of an immune complex-mediated late reaction but not of an IgE-mediated one. In fact, no specific IgE antibodies to fungi were detected in any patient.

The positive bronchial challenge test against *A fumigatus* does not seem to be the result of cross-reactions between common antigens of different fungi. Case 2, despite presenting specific IgG anti-

bodies to *P frequentans* and *A fumigatus*, had a negative specific bronchial challenge test result to *P frequentans*. In contrast, bronchial challenge was positive to both *A fumigatus* and cork colonized by *Aspergillus* sp in this patient.

The findings in case 5 provide particular evidence to support the participation of cork, itself, in the etiology of suberosis. This patient had positive spe-

Table 2—Immunologic Test Responses to Various Antigens in the Eight Patients With Suberosis and Results of Cultures of Cork From the Workplace*

Patient No.	Specific Skin Tests (Result)	Specific IgG Antibodies (ELISA (Result))	Specific Bronchial Challenge Tests (Result)	Positive Workplace Cork Culture in Substratum
1	Clean cork (+)	Clean cork 0.351 (+) Penicillium 1.665 (+) Aspergillus 0.756 (+) Mucor 0.483 (-) Rhizopus 1.160 (+)	Clean cork (+) Penicillium (1/100 and 1/10) (+)	
2	Clean cork (+) Penicillium (+)	Clean cork 0.249 (-) Penicillium 2.160 (+) Aspergillus 0.475 (+) Mucor 0.687 (-) Rhizopus 0.358 (-)	Workplace cork (+) Penicillium (-) Aspergillus (1/100 and 1/10) (+)	Aspergillus sp
3	Clean cork (-) Penicillium (-)	Clean cork 0.372 (+) Penicillium 1.163 (+) Aspergillus 0.293 (-) Mucor 0.221 (-) Rhizopus 0.422 (-)	Clean cork (-) Penicillium (1/100) (+)	
4		Clean cork 0.533 (+) Penicillium 2.022 (+) Aspergillus 0.402 (+) Mucor 0.409 (-) Rhizopus 0.378 (-)		
5	Clean cork (+)	Penicillium 0.310 (-) Aspergillus 0.091 (-)	Clean cork (1/10) (+)	
6	Penicillium (+)	Penicillium (precipitins) (+)	Workplace cork (+)	Penicillium sp
7	Clean cork (+) Penicillium (+) Aspergillus (+)	Clean cork 0.475 (+) Penicillium 2.063 (+) Aspergillus 0.938 (+) Mucor 0.007 (+) Rhizopus 1.196 (+)	Clean cork (-) Penicillium (1/10) (+)	
8		Clean cork 0.204 (-) Penicillium 1.806 (+) Aspergillus 0.388 (-) Mucor 0.466 (-) Rhizopus 0.591 (+)		

*Positive values (cut-off) for the specific IgG antibodies (expressed in A_{450} units): *P frequentans* > 0.687, *A fumigatus* > 0.417, *Mucor* > 0.735, *R nigricans* > 0.493. Clean cork > 0.265. Workplace cork: antigenic extract obtained from the cork manipulated by the patient in his daily work.

cific skin and bronchial challenge test results against suberin, but did not show specific serum antibodies against *P frequentans* or *A fumigatus*. We verified the antigenicity of suberin extract in a previous study of 73 cork dust-exposed workers in whom significant specific IgG serum antibody levels against suberin were detected in 70% of cases. The 97.5% percentile of values obtained in 33 nonexposed control subjects (unpublished data) was considered the cut-off of positivity.

With regard to clinical management, the prolonged latency period and late onset of symptoms after exposure to the causal agent can hinder the diagnosis of suberosis.²⁴ Thus, diagnosis may depend on a high rate of suspicion. The first and most important therapeutic approach for a patient with hypersensitivity pneumonitis is avoidance of the antigen.^{25,26} Treatment with corticosteroids has proved successful in controlling clinical symptoms

during acute episodes of the disease; however, long-term results are not guaranteed.²⁷ In the present series, the response to antigen avoidance was markedly favorable. Pulmonary function returned to normal in patients with initial impairment (although 75% presented dyspnea on extreme effort), and there was significant clinical improvement in all patients at the end of follow-up. Early diagnosis of the disease is of paramount importance so that antigen avoidance measures can be adopted as soon as possible, since prolonged persistence of symptoms in other types of hypersensitivity pneumonitis has proved to be a factor of poor prognosis.²⁶

Pulmonary function tests at the time of diagnosis showed a tendency toward decreased FVC and/or impaired DLCO. These findings are consistent with the presence of an interstitial lung pattern that was not always detected on chest radiography. The use-

fulness of chest CT²⁵ to detect pulmonary parenchymal changes such as areas of expiratory airtrapping²⁹ was evident in this series. BAL and TBB results were not always specific for hypersensitivity pneumonitis, but consistent findings, together with highly suggestive clinical symptoms, were frequently helpful to establish the diagnosis.

Cellular immunity is known to be depressed during the acute phase of sarcoidosis³⁰ and in some forms of hypersensitivity pneumonitis,³¹ which differentiates these entities from other types of interstitial lung disease.³¹ Among the three patients who underwent delayed cutaneous hypersensitivity tests in the present study, results were almost completely negative during the acute phase of the disease (Table 1), and there was a change to positive in one patient after antigenic avoidance, suggesting that the same phenomenon also occurs in suberosis.

Quantification of serum-specific IgG antibodies by ELISA and immediate specific skin tests are markers of exposure but are not specific for disease; nevertheless, these tests permit a better etiologic approach to the diagnosis of suberosis, particularly when high clinical suspicion has been established. In any event, specific bronchial challenge testing confirmed the diagnosis in many cases and, together with other diagnostic techniques, proved that antigens other than *P frequentans* can participate in causing the disease. In conclusion, apart from *P frequentans*, *A fumigatus* and cork dust itself may play an etiologic role in the development of suberosis.

ACKNOWLEDGMENT: We thank Christine O'Hara for English translation of the manuscript, and María-Dolores Untoria, a member of the nursing staff, for laboratory analysis.

REFERENCES

- Cancella de Abreu LC. On a special kind of pneumoconiosis: the suberosis [in Portuguese]. *Med Contemp* 1955; 73:235-243.
- Cortez Pimentel J, Avila R. Respiratory disease in cork workers (suberosis). *Thorax* 1973; 28:409-425.
- Avila R. Some aspects of suberosis: respiratory disease in cork workers [in French]. *Bronches* 1974; 22:121-128.
- Alegre J, Morell F, Cobo E. Respiratory symptoms and pulmonary function of workers exposed to cork dust, toluene diisocyanate and conidia. *Scand J Work Environ Health* 1990; 16:175-181.
- Mármol Rodríguez A, Conejero Ramos A, Jiménez Romero, et al. Estudio de la incidencia de suberosis en trabajadores del corcho de la provincia de Sevilla. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1980; 7:400-406.
- Rute Marzano J, Valdés M, León MA, et al. Suberosis: alveolitis alérgica extrínseca en un trabajador del corcho. *Med Clin (Barc)* 1984; 82:285-290.
- Moral AJ, Arias J, García MA, et al. Alveolitis alérgica extrínseca por *Penicillium frequentans*: revisión y presentación de un caso. *Arch Bronconeumol* 1994; 30:462-464.
- Avila RC, Villar TC. Suberosis: respiratory disease in cork workers. *Lancet* 1968; 1:620-621.
- Avila R, Lacey J. The role of *Penicillium frequentans* in suberosis (respiratory disease in workers in the cork industry). *Clin Allergy* 1974; 4:100-117.
- Fishman AP. Hypersensitivity pneumonitis. In: Fishman's pulmonary diseases and disorders. Vol 1. 3rd ed. New York, NY: McGraw-Hill, 1968; 1085-1097.
- Parish WE. Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera. *Lancet* 1970; 1:591-593.
- Morell F, Orriols M, Molina C. Usefulness of skin test in Farmer's Lung. *Chest* 1985; 87:202-205.
- Morell F, Curull V, Orriols R, et al. Skin tests in bird breeder's disease. *Thorax* 1986; 41:538-541.
- Metzger WJ, Butter JE, Swanson P, et al. Amplification of the enzyme-linked immunosorbent assay for measuring allergen-specific IgE and IgG antibody. *Clin Allergy* 1981; 11:523-531.
- Orriols R, Morell F, Curull V, et al. Impaired non-specific delayed cutaneous hypersensitivity in bird fancier's lung. *Thorax* 1989; 44:132-135.
- Orriols R, Morell F, Fité E, et al. Reactividad cutánea retardada en una población de 400 pacientes hospitalizados: estudio control. *Med Clin (Barc)* 1981; 77:240-242.
- Quarner PhH, Tammeberg CJ, Cotes JE, et al. Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur Respir J* 1996 6(suppl 16):5-40.
- Cotes JE, Chinn DJ, Quarner PhH, et al. Standardization of the measurement of transfer factor (diffusing capacity). *Eur Respir J* 1993; 6(suppl 16):41-52.
- Foester RE, Fowler WS, Bates DV, et al. The absorption of carbon monoxide by the lungs during breathholding. *J Clin Invest* 1954; 33:1135-1145.
- Roca J, Sánchez J, Agustí-Vidal A, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1986; 22:217-224.
- Morell F. Prueba de provocación cuando se sospecha una alveolitis alérgica extrínseca. In: *Pneumología: puntos, exploraciones y datos en medicina respiratoria*. 7th ed. Barcelona, Spain: Masson, 2002; 195.
- Ramírez-Venegas A, Samores RH, Pérez-Padilla R, et al. Utility of a provocation test for diagnosis of chronic pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:862-869.
- Hendrick DJ, Marshall R, Fox JA, et al. Positive "abseolar" responses to antigen inhalation provocation test: their validity and recognition. *Thorax* 1980; 35:415-427.
- Schnueter DP. Infiltrative lung disease hypersensitivity pneumonitis. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70:50-65.
- Allen DH, Williams GV, Woolcock AJ. Bird breeder's hypersensitivity pneumonitis: progress studies of lung function after cessation of exposure to the provoking antigen. *Am Rev Respir Dis* 1976; 114:555-565.
- De Gracia J, Morell F, Bofill JM, et al. Time of exposure as a prognostic factor in avian hypersensitivity pneumonitis. *Respir Med* 1989; 83:139-143.
- Mönkäre S. Influence of corticosteroid treatment on the course of farmer's lung. *Eur J Respir Dis* 1983; 64:283-293.
- Lynch DA, Newell JD, Logan PM, et al. Can CT distinguish hypersensitivity pneumonitis from idiopathic pulmonary fibrosis? *AJR Am J Roentgenol* 1995; 165:807-811.
- Small JH, Flower CD, Trull ZC, et al. Air trapping in extrinsic allergic alveolitis on computed tomography. *Clin Radiol* 1996; 51:684-688.
- Morell F, Levy G, Orriols R, et al. Delayed cutaneous hypersensitivity tests and lymphopenia as activity markers in sarcoidosis. *Chest* 2002; 121:1239-1244.
- Pierce R, Turner-Warwick M. Skin tests with tuberculin (PPD), *Cantharis allitons*, and *Trychophyton* spp in cryptogenic fibrosing alveolitis and asbestos-related lung disease. *Clin Allergy* 1980; 10:229-237.

**PUBLICACIONES
(2)**

**BIRD FANCIER'S LUNG:
A SERIES OF 86 PATIENTS**

Morell F, Roger À, Reyes L, Cruz MJ, Murio C, Muñoz X.

Medicine 2008; 87: 110-30

Abstract: Bird fancier's lung (BFL) is one of the most common types of hypersensitivity pneumonitis. Nevertheless, the criteria for diagnosing this condition are not standardized. The current study is an in-depth investigation into the clinical characteristics of BFL in the largest series examined for this purpose by a single group, to our knowledge, taking into account the acute, subacute, or chronic clinical presentation.

From 1977 to 2003, BFL was diagnosed in 86 patients using a homogeneous protocol. Data from the clinical history and physical examination were analyzed, as well as the results from the following complementary examinations: laboratory analyses, specific serum IgG antibodies determination, chest X-ray, chest computed tomography (CT), pulmonary function testing, immediate hypersensitivity skin testing, delayed cutaneous hypersensitivity testing, bronchofibroscopy with bronchoalveolar lavage (BAL) and/or transbronchial biopsy, bronchial challenge testing, and surgical lung biopsy. In addition, clinical and epidemiologic characteristics were determined in a control group of 60 pigeon breeders who did not meet the diagnostic criteria of BFL.

Eighty-six patients (21 men and 65 women) with a mean age of 47 years were studied. Seven (8%) patients were younger than 15 years of age at the time of the diagnosis. In 3 cases, the disease was caused by exposure to feather-filled bedding. Nearly 1 in 5 patients was diagnosed in the chronic phase of the disease. The mean diagnostic delay was 1.6 years overall, and 3.2 years in patients diagnosed in the chronic phase of the disease. Among the 17% of patients with chronic disease, the mean interval from initiation of exposure to diagnosis was 16 years, a higher value than in the acute or subacute presentation forms. Dyspnea and cough were the most common clinical symptoms (98% and 82%, respectively), and nearly 25% had grade III or IV dyspnea at diagnosis. Only 18% of patients experienced chest tightness, a symptom classically considered to be frequent in this condition. Erythrocyte sedimentation rate was elevated (>30 mm/h) in 44% of patients. Urinary calcium was

elevated in 20% of patients. Angiotensin-converting enzyme was not elevated in any of the patients in which it was measured. Lactate dehydrogenase increases were found in 51% of patients. Specific IgG antibodies to avian antigens were documented in 92% of BFL patients, but also in 87% of pigeon breeder controls.

The most frequent radiologic finding was an interstitial pattern in 79% of patients. Common chest CT features were ground glass areas (68%) and a mosaic pattern (61%); areas of emphysema were found in 7/41 (17%) patients, 5 of whom had never smoked. Two patients had a CT pattern of pulmonary fibrosis indistinguishable from idiopathic pulmonary fibrosis. Immediate hypersensitivity skin testing with bird sera and pigeon bloom was positive in 78% and 100% of BFL patients, respectively, and in 64% and 88% of control pigeon breeders, respectively. Almost one-third of the patients (29%) presented an anergic response on delayed cutaneous hypersensitivity testing. Restrictive ventilatory impairment was the most frequent functional pattern (77%), although 9% and 4% showed a pure obstructive and mixed pattern, respectively. The carbon monoxide diffusing capacity was decreased (<80% of the predicted value) in 85% of cases. Forty-one percent of patients had PaO₂ <60 mm Hg at diagnosis when blood gas analysis was performed. Lymphocytosis (>20% lymphocytes) was documented in 83% of patients who underwent BAL, with a similar frequency in the 3 presentation forms: 70% acute, 89% subacute, and 85% chronic. In addition, inversion of the CD₄/CD₈ ratio (<1) was observed in 62% of the patients, but 38% of cases showed a CD₄ predominance. The characteristic triad of histopathologic findings in hypersensitivity pneumonitis was found in only 9% of patients undergoing transbronchial biopsy, but at least 1 of these findings was seen in 69%. Surgical lung biopsy was undertaken in 14/86 (16%) patients; the complete triad was observed in 50% and at least 1 finding in 100%. In 54/86 (63%) patients, the diagnosis was confirmed by bronchial challenge testing, a test with a sensitivity of 92% and specificity of 100%.

BFL is a potentially severe disease that can progress to respiratory failure secondary to pulmonary fibrosis or chronic obstructive pulmonary disease, as a form of chronic occupational respiratory disease. Respiratory symptoms in exposed patients, including children and adults who have only 1 pet bird at home, should raise the suspicion of BFL. Diagnosis in the chronic phase is frequent, and the delay to diagnosis was greatest in these cases. Elevated urinary calcium, lactate dehydrogenase, and erythrocyte sedimentation rate in a bird fancier may constitute a combined marker for suspected BFL. Chest CT frequently discloses emphysema and a pattern of idiopathic pulmonary fibrosis in some patients. An anergic response on delayed cutaneous hypersensitivity testing is not infrequent. The presentation with respiratory failure and the predominance of CD₄ T lymphocytes in some patients' BAL are

From Servei de Pneumologia (FM, LR, XM) i Unitat d'Investigació en Pneumologia (MUC), Hospital Universitari Vall d'Hebron, Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona; CIBERES, (Ciber Enfermedades Respiratorias) Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain; Servei de Pneumologia, Hospital Dos de Maig (AR) i Servei de Pneumologia, Hospital General de Catalunya (CM), Barcelona, Spain.

This study was financed in part by FISS grant 99/0963.

Address reprint requests to: Ferran Morell, MD, Servei de Pneumologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Passeig Vall d'Hebron, 119-129, Barcelona, Spain. Fax: 93 274 6083; e-mail: fmorell@vhebron.net.

Copyright © 2008 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 0025-7974/08/3702-0110

DOI: 10.1097/MD.0b013e31816d1dda

both remarkable. Lymphocytosis on BAL also persists in the chronic phase of the disease. Bronchial challenge testing has a high diagnostic yield, and surgical lung biopsy is not needed to reach the final diagnosis in the vast majority of cases.

(*Medicine* 2008;87:110-130)

Abbreviations: ACE = angiotensin-converting enzyme, BAL = bronchoalveolar lavage, BFL = bird fancier's lung, COPD = chronic obstructive pulmonary disease, CT = chest computed tomography, DCHT = delayed cutaneous hypersensitivity testing, DLCO = carbon monoxide diffusing capacity, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, ESR = erythrocyte sedimentation rate, FEV₁ = forced expiratory volume in 1 second, FVC = forced vital capacity, HP = hypersensitivity pneumonitis, IHST = immediate hypersensitivity skin testing, LDH = lactate dehydrogenase, PFT = pulmonary function test, SLB = surgical lung biopsy, TBB = transbronchial biopsy, TLC = total lung capacity.

INTRODUCTION

The term hypersensitivity pneumonitis (HP) encompasses a group of lung diseases produced by inhalation of certain substances, mainly organic, that trigger an inflammatory reaction in susceptible individuals at the level of the alveoli, bronchioles, and pulmonary interstitium, with a marked lymphocytic-histiocytic or monocyte-macrophage component³⁰. A great number of antigenic sources have been identified as the etiologic agents producing this group of diseases²⁴. Among all the types of HP, bird fancier's lung (BFL) is one of the most frequently diagnosed entities in our setting and, together with farmer's lung, one of the leading diseases in this group. This considerable prevalence is due to the fact that the disease can occur not only in pigeon breeders and keepers of other species, who are regularly exposed to many birds¹⁸, but also in persons who keep 1 or 2 birds in their home and experience continuous daily exposure³⁹.

Lengthy exposure to avian proteins originating in serum^{57,104} and found in epithelial products, bloom (a waxy powder that coats the feathers)^{5,57,104}, or bird droppings^{5,57}, can trigger a type-III immune complex-mediated hypersensitivity reaction¹³ and type I⁷¹ and type IV^{13,67} reactions, with predominant activation of alveolar macrophages and T lymphocytes¹⁴. These reactions are responsible for the inflammatory response, which leads to the development of the disease and the acute, subacute, or chronic clinical manifestations. In some cases the clinical symptoms are severe enough to trigger acute respiratory failure¹¹⁷, as characteristically occurs in some types of HP, such as aspartosis³⁰.

The criteria for diagnosing HP are not well standardized, and despite the recent efforts of expert panels to establish the diagnosis on clinical data alone²⁶, the definitive diagnosis must be supported by additional tests, some of them having an invasive nature. Progression of the disease over years can lead to chronic respiratory failure resulting from well-established pulmonary fibrosis⁸³ or chronic obstructive pulmonary disease (COPD)¹², thereby conferring a status of potentially severe disease on this entity.

Since Reed and Barbee⁹⁸ described the first 2 cases of BFL in 1965, knowledge of this condition has been based on

case reports and limited series, including 2 series described by our group^{70,119}, or on discussion of specific clinical characteristics or the findings obtained from complementary examinations performed in some series. Although a few case-control epidemiologic studies have included a good number of BFL patients¹⁶ the present study was designed to delve deeply into the clinical characteristics of BFL in what is to our knowledge, the largest series investigated for this purpose by a single group to date. In addition, we describe the findings and diagnostic yield of the most frequently used complementary tests for diagnosing this condition (for example, laboratory analyses, imaging and bronchofibroscopic techniques, pulmonary function tests (PFTs), immunologic tests, bronchial challenge testing). The results of some of these tests are compared with those obtained with the same examinations in an ad hoc constituted control group. From the clinical viewpoint, the potential severity of this entity is highlighted; in many cases the condition may already present as pulmonary fibrosis or COPD at the time of the diagnosis¹⁶. Lastly, a broad review of the related literature is provided, with a discussion of the current knowledge about this condition and the results obtained in our series.

PATIENTS AND METHODS

Study Population

Over a period of 30 years (1974–2003), 86 patients (21 men and 65 women) were studied with a homogeneous diagnostic protocol and met the criteria for BFL (16, 29, 32, and 9 patients diagnosed during the periods 1974–1980, 1981–1990, 1991–2000 and 2001–2003, respectively). Some of these patients had been attended initially at other hospitals in Catalonia and were later referred to our center to complete the diagnostic study.

Diagnostic Protocol

For BFL patients, we analyzed data from the clinical history and physical examination, as well as the following additional tests: laboratory analyses with hemogram, erythrocyte sedimentation rate (ESR), gammaglobulins, total G and E immunoglobulins, calcium level, calciuria/24 h, angiotensin-converting enzyme (ACE), and plasma lactate dehydrogenase (LDH) levels, as well as specific serum IgG antibodies, chest X-ray, chest computed tomography (CT), PFT-spirometry, static lung volumes and carbon monoxide diffusing capacity (DLCO), immediate hypersensitivity skin testing (IHST), delayed cutaneous hypersensitivity testing (DCHT), bronchofibroscopy with bronchoalveolar lavage (BAL) and/or transbronchial biopsy (TBB), and bronchial challenge testing. In the few cases in whom a definite diagnosis could not be reached, surgical lung biopsy (SLB) was performed after individualized assessment of the indication. In more than half these cases, however, SLB had been undertaken before referral to our institution; therefore, the complementary examinations in these patients were performed after their arrival to our service. Because the

patients in this series were diagnosed over a lengthy interval of time (30 yr) and because some of them had been first attended in other centers, not all patients underwent the same complementary examinations; hence, the results are presented according to the number of patients (n) who underwent each examination or procedure.

Diagnostic Confirmation

The diagnosis was established following the steps described in the algorithm shown in Figure 1⁷⁶: current or prior exposure to birds together with consistent signs and symptoms (dyspnea, cough, fever, chest tightness, malaise) related with the exposure (easier to establish in the acute forms), consistent chest X-rays (reticular or micronodular interstitial pattern or ground glass areas), and consistent PFTs (restrictive and/or obstructive ventilatory impairment and/or decreased DLCO). At this point, the presence of specific IgG antibodies (precipitins or enzyme-linked immunosorbent assay [ELISA]) together with positive IHST and clinical improvement with discontinuation of exposure was considered diagnostic. If only 1 of these last 2 tests was positive, results consistent with HP from at least 1 of the following 4 examinations were required for the diagnosis: 1) characteristic chest CT features (air trapping, ground glass opacities, mosaic pattern, and/or fine centrilobular nodules)^{22,43,69}, 2) BAL specimen showing marked lymphocytosis and inversion of the CD₄/CD₈ ratio¹¹⁵ (although CD₄ cells sometimes predominate), 3) TBB material exhibiting the following triad: interstitial lymphocytic-histiocytic infiltrate, bronchiolitis obliterans, and poorly formed granulomas⁹³ (in cases in which only lymphocytic-histiocytic infiltrate was confirmed, at least 1 of the other 2 described

criteria was required), and/or 4) a positive bronchial challenge test.

In addition, SLB was performed in 14 patients, in whom the diagnosis could not be definitely established on the findings from these tests. As mentioned above, 8 (57%) of these patients underwent biopsy before referral to our service. The criteria considered consistent with the diagnosis were the presence of the triad described for TBB, particularly when there was predominantly centrilobular involvement²¹. Lastly, in 3 patients the previously established diagnosis was confirmed by histopathologic study of an explanted lung specimen following lung transplantation in our center.

Criteria Used to Categorize Clinical Presentation

Acute form: 1) when the symptoms (malaise, dyspnea, cough with or without expectoration, fever, and chest tightness) are evident and present within some hours (generally 4–8 h, up to a maximum of 24 h) following contact with birds (1 or more episodes), and improve with discontinuation of exposure; 2) when the diagnosis is made because of a recent acute episode, despite the fact that the patient had prolonged clinical symptoms.

Subacute form: when, over a period of weeks or months, overlapping symptoms occur, consisting of asthenia, constitutional syndrome, mild fever, weight loss, dry or productive cough, and/or dyspnea on exertion.

Chronic form: when a patient reporting current or past contact with birds presents persistent grade III/IV dyspnea²⁹ and CT or lung biopsy demonstrates diffuse interstitial lung disease with well-established fibrosis; that is, honeycombing or microcystic pattern with or without peripheral predominance in CT and usual interstitial pneumonia- or nonspecific

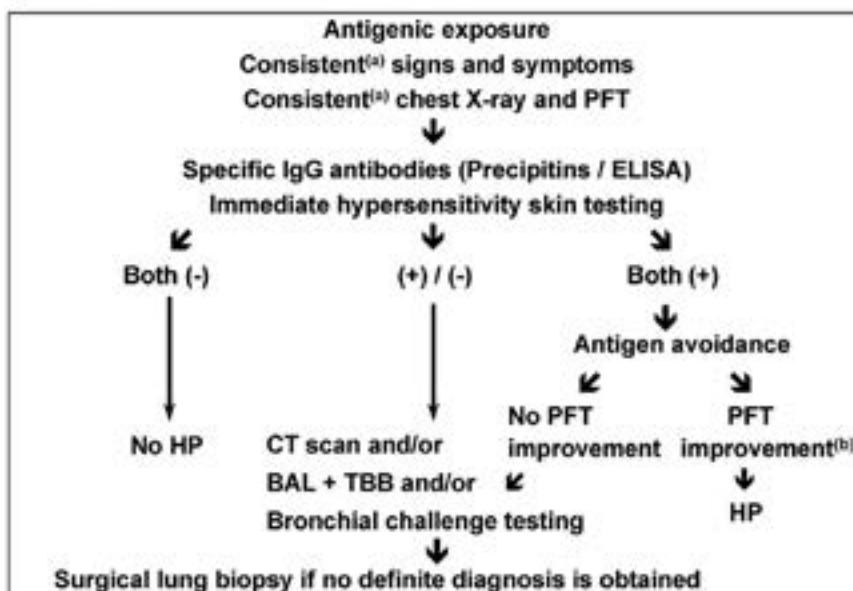


FIGURE 1. Diagnostic algorithm for hypersensitivity pneumonitis. (a) See Diagnostic Confirmation section in Patients and Methods. (b) PFT improvement: $\geq 20\%$ increase of FVC, FEV₁, and/or DLCO in PFTs.

interstitial pneumonia-like lesions in lung biopsy. Non-smoker patients with chronic symptoms of dyspnea, cough, and expectoration, whose PFTs are consistent with chronic airway obstruction (COPD-emphysema) are also included in this group; these patients can be considered as affected with an occupational COPD form.

Control Group of Pigeon Keepers

The control group for the study comprised 60 pigeon keepers who were members of various associations of carrier pigeon fanciers and were exposed to large numbers of these birds. The persons enrolled had responded to a survey sent by mail on avian exposure and the related symptoms, and were later visited in our service. None of them fulfilled the diagnostic criteria of BFL. The epidemiologic characteristics of the control group are shown in Table 1. The study protocol for this group of pigeon keepers was clinical history, PFT, chest X-ray, laboratory analyses (with the same determinations as in the group of patients with BFL), and IHST.

Population Exposed to Birds in Our Setting

To determine the percentage of the population exposed to birds in our setting, an ad hoc survey was made of workers at Hospital Vall d'Hebron (n = 400) during their mandatory medical check-up, asking each person whether they were currently or at any time in the past exposed to birds at home; level of exposure (h/wk) was also requested.

Preparation of Antigen Extracts

IHST and bronchial challenge tests were performed with avian sera and pigeon bloom extracts prepared in our

laboratory. Blood for avian sera extracts was collected from several birds and centrifuged; the serum protein concentration was measured by bicinchoninic acid assay (Pierce Chemicals, Rockford, IL). Bloom was obtained by aspiration, collecting the feather dust of 20 pigeons from a filter fitted onto a mini-vacuum cleaner. Antigen extract from pigeon bloom was prepared by defatting the raw material with anhydrous ether at 37°C in a Soxhlet apparatus (Corning, Stone, Staffordshire, UK) for 4 hours¹⁰⁴. The material was then dried and extracted (1:20 w/v) in 0.2 mol/L ammonium bicarbonate, pH 7.9, overnight at 4°C. The solution was centrifuged and the supernatant dialyzed overnight at 4°C against deionized water in a 3500 molecular weight cutoff membrane (Spectra/Por; Spectrum Medical Industries, Los Angeles, CA) until a clear extract was obtained. The material was lyophilized and the protein concentration measured by the bicinchoninic acid assay method¹⁰⁴. The different lots of antigen extract were characterized by SDS-PAGE to assure that they had the same protein profile.

Determination of Specific IgG Antibodies

In the first 31 cases, specific precipitating antibodies were determined exclusively by counter-current immunoelectrophoresis. Twenty µL of antigen solution (protein concentration: 100 mg/mL) were placed in agar plate wells and tested against 20 µL of undiluted serum from each patient. The agar plates underwent electrophoresis in a sodium barbital buffer (pH 8.4, µ = 0.05) and then were left in 5% sodium citrate solution for 72 hours. Subsequently, plates were washed with PBS and stained with Coomassie

TABLE 1. Clinical and Epidemiologic Data

	BFL Patients (n = 86)	Pigeon Breeders (Control Group) (n = 60)	p Value
Mean age, yr (range)	47 (9–76)*	44 (22–69)	0.5300
Sex	21 M (25%), 65 F (75%)	60 M (100%)	0.0001
Smoking			
Smokers	12 (14%) [†]	25 (41%)	0.0055
Exsmokers	7 (8%)	8 (14%)	0.4160
Prior yr of exposure to birds; mean (range)	9.9 (0.1–50)	23 (3–53)	0.2920
Latency period, yr of exposure until symptoms; mean (range)	8.7 (0.1–49.8)	NA	NA
No. of birds; mean (range)	17 (1–200)	91 (20–200)	0.0001
Species of birds [‡]	Pigeons 56 (65%) patients, canaries 30 (35%), parakeets 27 (31%), hens 13 (15%), parrots 9 (10%), doves 8 (9%), goldfinches 7 (8%), ducks 5 (6%), turtledoves 3 (3%), chickens 2 (2%), "carolinas" (parrot-like) 2 (2%), partridges, storks, and quails, 1 patient each	Only pigeons 43 (72%), pigeons + other birds 17 (28%)	

Abbreviations: NA = not applicable.

*Seven patients aged <15 yr.

[†]The 12 smokers were 7/21 (33%) men and 5/65 (8%) women.

[‡]Fifty-one (59%) patients were exposed to more than 1 species of birds (pigeons + other birds in 35 of them), and 35 were exposed to a single species (20 to pigeons, 5 to parakeets, 3 to parrots, 3 to doves, 2 to canaries, 1 to turtledoves and 1 to hens); 11 (13%) had only 1 bird, and 32 (37%) had >10 birds; 3 patients mentioned that they had a feather-filled quilt or pillow in addition to a limited prior history of contact with birds.

Brilliant Blue (Pierce Chemical Co., Rockford, IL), and the precipitation lines were assessed by direct visualization.

In the remaining cases, specific IgG was measured by an ELISA technique based on the method of Metzger et al⁶⁴ modified with avian sera or bloom extract as the antigen. Wells of high-binding microtiter plates (Costar, Cambridge, MA) were incubated with 2 µg protein/well in 0.1M Na₂CO₃/NaHCO₃ buffer (pH 9.6) at 4°C overnight. The wells were then washed 3 times with washing buffer (0.1M phosphate buffered saline, pH 7.5/0.005% Tween 20) and blocked with phosphate buffered saline/1% bovine serum albumin for 1 hour at 37°C. Washing the plates 4 times between steps, the specific IgG assays were performed in duplicate by incubating the serum samples at an appropriate dilution and the standard curve for 2 hours at 37°C. A solution of horseradish peroxidase-labeled antihuman IgG (clone MH16-1ME, 0.5 mg/mL) diluted at 1:1000 was added and plates were incubated for 2 hours at 37°C. The reaction was developed with 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (Sigma Chemicals), 3% H₂O₂ for 20 minutes at room temperature in the dark and stopped with 2M H₂SO₄. Optical density at 450 nm was measured with a microplate reader (Titertek Multiskan Plus MKII).

Results were expressed as absorbance units at 450 nm (A_{450 nm}). Values above the mean plus 2 standard deviations of the results obtained in a control population of 30 healthy individuals previously studied in our laboratory were deemed positive. The following results were considered positive: pigeon serum >0.284 A_{450 nm}, parakeet serum >0.180 A_{450 nm}, canary serum >0.336 A_{450 nm}, hen serum >0.445 A_{450 nm}, and parrot serum >0.294 A_{450 nm}.

For bloom extract, results were expressed as arbitrary ELISA units using a reference serum pool with an assigned value of 5 × 10⁴ U/mL. The pool was obtained with serum samples from precipitin-positive symptomatic patients.

Pulmonary Function Testing

PFTs were performed using a MasterLab apparatus (MasterLab, Jaeger, Germany). All tests were done according to the European Respiratory Society guidelines^{27,95} described in 1993, even those carried out before that year. Static lung volumes were measured using the plethysmography method, and DLCO was measured using the single breath-hold method³⁹. The predicted spirometric values proposed by Morris et al⁷⁷ and by Roca et al¹⁰³ for the Mediterranean population were applied from 1974 to 1985 and from 1986 to the present, respectively. The predicted values used for static lung volumes and DLCO tests were those proposed by the European Respiratory Society^{27,95}.

A restrictive ventilatory pattern was defined as forced vital capacity (FVC) <85% of the predicted value with forced expiratory volume in 1 second (FEV₁)/FVC ratio >80%⁹⁵ in the absence of a static lung volume study, together with a total lung capacity (TLC) <80% of the predicted value⁹¹, when these tests were performed. An obstructive ventilatory pattern was established on the basis of FEV₁/FVC ratio <70% together with FEV₁ <80% of the predicted value⁹⁵. The concomitant presence of characteris-

tic functional criteria for both patterns was defined as a mixed ventilatory pattern. The DLCO was considered decreased at values of <80% of the predicted value⁹¹.

The dyspnea grade was determined following the New York Heart Association proposed grading criteria²⁹.

Bronchoscopy Techniques

BAL was performed according to the recommendations of the European Respiratory Society²⁴. The TBB procedure used has been described by other authors³.

Immediate Hypersensitivity Skin Testing

IHST was performed by intradermal injection in the forearm of 0.1 mL of solutions (1/100 w/v) of different avian extracts: pigeon bloom and pigeon, parakeet, canary, hen, and parrot sera. Based on the role of IgG in the mediation of immediate hypersensitivity⁸⁸, development of a wheal with a maximum diameter over 10 mm at 15 minutes (immediate reading) was the criterion defining a positive test^{66,68}.

For both the BFL patients and the control pigeon keepers, the reference results applied were taken from published values obtained by our group in a population of 20 BFL patients, 20 asymptomatic pigeon breeders, and 10 unexposed individuals⁶⁶.

Delayed Cutaneous Hypersensitivity Testing

DCHT was performed by intradermal injection in the forearm of 0.1 mL of each of the following antigen extract solutions: candidin 1/100 w/v (Leti Laboratories), tuberculin (PPD Evans RT-23) 0.1 mL = 2 UT (Medeva-Pharma S.A.), trichophyton mentagrophytes 100 µg/mL (Leti Laboratories), and varidase (streptokinase 40 IU/mL/streptodornase 10 IU/mL) (Lederle Laboratories). Development of a wheal with a maximum diameter >5 mm by 48 hours after extract injection was considered positive^{84,85}.

Two types of immune response were defined: *normal response*, when positive status (>5 mm wheal) to at least 1 antigen was established and *anergic response*, when tests to all 4 antigens were negative.

Bronchial Challenge Testing

Bronchial challenge tests were performed in the hospital setting after obtaining the patient's written consent. Using a De Vilbiss 646 nebulizer (De Vilbiss, Somerset, PA) and a Mefar MB3 dosimeter (Mefar, Ele H₂O, Medicali, Brescia, Italy), which releases the solution during the first second of each inspiration, the patient was requested to inhale 2 mL of the suspected antigen at a dilution of 1/100 (0.01 mg/mL)⁷³. FVC, FEV₁, DLCO, and the patient's temperature were recorded at baseline, 20 minutes after the inhalation, and every hour thereafter for the next 8 hours. Blood cell count, chest X-ray, and O₂ saturation measurement were performed before and 8 hours after inhalation. In all cases, a bronchial challenge test with a placebo solution was carried out 1 day before testing with the suspected antigen.

The test was considered positive when any of the following responses was elicited:

1. FVC decrease >15% or DLCO decrease >20% as compared to baseline values;

2. 10%–15% FVC decrease plus at least 1 of the following criteria with respect to clinical status and basal analytic values^{47,96}: a) white blood cell increase $\geq 20\%$, b) O₂ saturation decrease $\geq 3\%$, c) significant radiologic changes, d) rise in body temperature $>0.5^\circ\text{C}$, and e) evident clinical symptoms (for example, cough, dyspnea);
3. FVC decrease $<10\%$ but with evidence of 3 or more of the previously mentioned clinical or analytic criteria⁷³.

When the test proved negative, inhalation of a new antigen dilution of 1/10 (0.1 mg/mL) was performed the next day following the same procedure.

To determine the validity, sensitivity, and specificity of bronchial challenge testing in our setting, we recruited a control group comprising 20 individuals exposed to birds and affected with other lung diseases, who showed a diffuse interstitial radiologic pattern. The final diagnoses of these

TABLE 2. Epidemiologic Data, Chest CT Findings, Pulmonary Function Tests, and PaO₂ and Bronchoalveolar Lavage Results in Patients With BFL, by Clinical Presentation Phase

	BFL Patients No. (%)	Acute Phase No. (%)	Subacute Phase No. (%)	Chronic Phase No. (%)
Epidemiologic data				
No. of patients	86	34 (40)	37 (43)	15 (17)
No. of birds; mean (range)	17 (1–200)	21 (1–200)	14 (1–100)	13 (3–30)
Birds per yr ^a ; mean (range)	206 (0.5–2000)	64 (0.5–1660)	279 (0.5–2000)	304 (9–1200)
Exposure time (yr); mean (range)	9.9 (0.1–50)	5.6 (0.1–20)	10.8 (0.2–50)	16 (3–40)
Diagnostic delay, yr of symptoms until diagnosis; mean (range)	1.6 (0–10)	0.8 (0–5)	1.7 (0.1–8)	3.2 (0.5–10)
Chest CT findings[†]				
Normal	1/41 (2)	1/12 (8)	0/20 (0)	0/9 (0)
Ground glass areas	28/41 (68)	8/12 (66)	13/20 (65)	7/9 (78)
Air trapping/mosaic pattern	25/41 (61)	7/12 (58)	15/20 (75)	3/9 (33)
Bronchiectasis	19/41 (46)	3/12 (25)	11/20 (55)	5/9 (55)
Nodular pattern	17/41 (41)	7/12 (58)	7/20 (35)	3/9 (33)
Septal thickening	12/41 (29)	0/12 (0)	8/20 (40)	4/9 (44)
Emphysema	7/41 (17) [‡]	3/12 (25)	2/20 (10)	2/9 (22)
Honeycombing	3/41 (7)	0/12 (0)	0/20 (0)	3/9 (33)
Pulmonary function test				
Spirometry pattern				
Normal	8/78 (10)	5/31 (16)	3/34 (9)	0/13 (0)
Restrictive	60/78 (77)	25/31 (81)	23/34 (68)	12/13 (92)
Obstructive	7/78 (9) [§]	1/31 (3)	5/34 (15)	1/13 (8)
Mixed	3/78 (4)	0/31 (0)	3/34 (9)	0/13 (0)
RV $>140\%$	15/57 (26)	4/22 (18)	9/23 (39)	2/12 (17)
DLCO $<80\%$	45/53 (85)	17/19 (89)	18/24 (75)	10/10 (100)
PaO ₂ <60 mm Hg	14/34 (41) ^{**}	5/13 (38)	4/14 (29)	5/7 (71)
Bronchoalveolar lavage				
% Lymphocytes $>20\%$	30/36 (83) ^{††}	7/10 (70)	17/19 (89)	6/7 (85)
CD4/CD8 <1	8/13 (62)	2/3 (66)	4/7 (57)	2/3 (60)
CD4/CD8 >1.2	5/13 (38)	1/3 (33)	3/7 (43)	1/3 (33)
Polymorphonuclear $>4\%$	26/36 (72) ^{‡‡}	6/10 (60)	15/19 (79)	5/7 (71)

^aBirds per yr: exposure variable defined as the number of birds multiplied by the number of yr of exposure.

[†]In 6/41 (15%) patients undergoing CT, the chest X-ray showed no significant alterations; predominant location of the lesions was apical in 8 (19%) patients, basal in 15 (36%), and diffuse in 18 (44%); 2 patients, both in the chronic stage of the disease, presented a fibrosis pattern that was indistinguishable from the pattern in idiopathic pulmonary fibrosis.

[‡]Five patients had never smoked and 2 were smokers (<20 cig/d; 1 patient had obstructive ventilatory impairment and the other 6 restrictive ventilatory impairment).

[§]Only 1 patient was an active smoker (<20 cig/d) and 1 was an exsmoker.

^{||}Chest CT was performed in 7 of these 15 patients; air-trapping was seen in 4/7 (57%) and emphysema in 1/7 (14%).

^{**}Blood gases were measured only in patients with a high degree of dyspnea.

^{††}Mean percentage of lymphocytes in BAL specimens from the 36 patients was 38% (range, 2%–85%); a percentage $>60\%$ was registered in 10/36 (28%) patients (4 acute, 5 subacute, and 1 chronic phase).

^{‡‡}Mean percentage of neutrophils in BAL specimens from 36 patients was 11% (range, 1%–64%).

patients, confirmed by TBB or SLB in the cases of diffuse interstitial lung disease, were usual interstitial pneumonia in 8 patients, nonspecific interstitial pneumonia in 2, sarcoidosis in 8, and bronchiolitis obliterans and hemosiderosis in 1 patient each.

Statistical Analysis

The Fisher exact test and unpaired t-tests were used to compare the nominal and continuous variables, respectively. All p values are 2-tailed. The Wilson method was used to calculate the sensitivity and specificity indices of bronchial challenge testing.

RESULTS

Clinical and Epidemiologic Data (Tables 1 and 2)

Noteworthy clinical and epidemiologic data include the high percentage of women and the low percentage of smokers. The exposure exclusively to canaries in 2 patients and to hens in 1 patient is also worthy of mention. Other relevant aspects include the mean delay of 1.6 years to diagnosis, and initial diagnosis in the chronic phase of the disease in 17% of patients. It must be highlighted that the mean diagnostic delay was 2-fold higher in patients diagnosed in the subacute phase and more than 3-fold higher in those in the chronic phase, as compared to patients diagnosed in the acute phase.

Pulmonary Function Testing and Blood Gas Measurement (Table 2)

Pulmonary function was assessed in 78 (91%) patients. Spirometry was performed in all cases, static lung volume study in 57 (73%), and DLCO testing in 53 (68%). The distribution of the various ventilatory patterns as assessed by spirometry is described in Table 2. Mean FVC relative to the predicted value was 66% (range, 28%–104%), with values lower than 85% in 66 (76%) patients and lower than 50% in 18 (21%) patients. Mean TLC relative to the predicted value was 84% (range, 46%–127%), with values below 80% in 19 (33%) patients. Mean DLCO relative to the predicted value was 56% (range, 14%–131%), with values below 80% in 45 (85%) patients and below 50% in 27 (51%). Lastly, the presence of air trapping (residual volume >140%) was demonstrated in 26% of patients in whom lung volumes were determined.

Spirometry was also carried out in 51 (85%) of the 60 control pigeon keepers without BFL. The test was normal in all but 4 (8%) patients, who presented a slight restrictive ventilatory impairment, which, in the absence of radiologic alterations, may be attributable to excess weight (body mass index of the 4 patients was 33, 34, 35, and 39 kg/m², respectively).

The PaO₂ at the time of diagnosis was determined in 34 (40%) patients. Respiratory failure (PaO₂ <60 mm Hg)¹²⁷ was documented in 41% of them, and was more frequent in patients diagnosed in the chronic phase of the disease. The mean PaO₂ value was 64 mm Hg (median, 63 mm Hg; range, 31–97 mm Hg). Hypercapnia was seen in only 1 (14%) of the 7 chronic-phase patients in whom this parameter was

recorded, with a value of 62 mm Hg (this patient had a body mass index of 35 kg/m² and no other known respiratory or cardiologic disease). In the 13 acute-phase patients and the 14 subacute-phase patients in whom blood gases were measured, normocapnia was documented.

Bronchoalveolar Lavage (Table 2)

BAL was undertaken in 36 (42%) patients. Lymphocytosis (>20%) and inversion of the CD₄/CD₈ T-lymphocyte ratio (<1) were found in most of the patients and in a similar percentage in all 3 presentation forms of the disease. A predominance of CD₄ (T-lymphocyte ratio >1.2) was seen in about one-third of patients.

Physical Examination and Symptoms (Table 3)

Inspiratory crackles were the most frequent finding, but the physical examination was strictly normal in 15% of patients. The incidence of digital clubbing in the overall

TABLE 3. Physical Examination and Symptoms

	BFL Patients (n = 86) No. (%)	Pigeon Breeders (Control Group) (n = 60) No. (%)	p Value
Physical examination			
Crackles*	68/86 (80)	0	<0.0001
Wheezing	13/86 (15)	0	0.0015
Digital clubbing [†]	6/86 (7)	0	0.046
Cyanosis	4/86 (5)	0	0.126
Signs of CHF	3/86 (3)	0	0.210
Normal	13/86 (15)	60/60 (100)	<0.0001
Symptoms			
Dyspnea [‡]	84/86 (98)	6/60 (10)	<0.0001
Cough [§]	71/86 (82)	14/60 (24)	<0.0001
Fever	44/86 (52)	0	<0.0001
Asthenia	39/86 (46)	0	<0.0001
Expectoration	33/86 (38)	8/60 (13)	0.0013
Rhinitis	30/86 (35)	13/60 (22)	0.0986
Weight loss	28/86 (33)	0	<0.0001
Conjunctivitis	21/86 (25)	4/60 (7)	0.0066
Chest tightness**	15/86 (18)	0	0.0004

Abbreviations: CHF = congestive heart failure.
 *Crackles were more frequent in patients in the chronic phase (14/15, 93%) than in patients in the acute phase (25/34, 73%) or subacute phase (29/37, 78%).
[†]Five of 6 (83%) patients with digital clubbing were in the chronic phase of the disease.
[‡]Dyspnea grade I in 13 (15.1%) patients, grade II in 51 (59.3%), grade III in 18 (20.1%), and grade IV in 2 (2.3%).
[§]Twelve of 15 (80%) patients diagnosed in the chronic phase did not have significant cough.
^{||}Fever was much more frequent in patients diagnosed in the acute phase (28/34, 82.3%) than among those diagnosed in the subacute (12/37, 32.4%) or chronic (4/15, 26.6%) phases.
 **Eight of 15 (53%) patients who mentioned chest tightness presented in the acute form of the disease; among all patients in the acute phase, this symptom occurred in 8/34 (24%) cases.

population was low, although in the group with chronic disease, digital clubbing was seen in one-third of patients.

The most frequent clinical signs and symptoms were dyspnea, cough, fever, asthenia, and expectoration. Although none of the control pigeon keepers met the diagnostic criteria for BFL, some of them reported respiratory symptoms.

Laboratory Data and Determination of IgG Antibodies to Bird Antigens (Table 4)

The most frequent findings were hypergammaglobulinemia; elevated LDH, ESR and IgE; and hypercalciuria. Specific serum IgG antibody determinations were performed in 78 (91%) patients. Specific IgG antibodies against avian serum or bloom were frequently present not only in patients with BFL, but in control pigeon keepers as well.

Imaging Examinations (Chest X-Ray and Chest CT) (Tables 2 and 5)

The radiologic studies showed a clear predominance of interstitial pattern, more than half of reticular type. Chest CT disclosed a high frequency of ground glass areas in all 3 presentation forms of the disease. Air trapping was less frequently found in the chronic presentation. Two patients presented a pattern of pulmonary fibrosis that was indistinguishable from idiopathic pulmonary fibrosis; their final diagnosis was obtained after an SLB was performed. Emphysema was documented in 25% of acute, 10% of subacute, and

TABLE 5. Radiologic Patterns and Predominant Location of the Lesions in Patients With BFL

Chest X-Ray (n = 82)	No. (%)
Radiologic pattern*	
Normal	10 (12)
Alveolar	1 (1)
Alveolar-interstitial	6 (7)
Interstitial [†]	65 (79)
Reticular	38 (58)
Reticulonodular	13 (20)
Nodular	10 (15)
Miliary	4 (6)
Predominant location of the lesions	
Apical	3 (4)
Basal	41 (50)
Diffuse	38 (46)

*The records mentioned volume loss in 13 (16%) cases.

[†]Percentage of cases with an interstitial pattern among patients in the acute, subacute, and chronic phases was 26/33 (79%), 25/34 (73%), and 14/15 (93%), respectively.

22% of chronic cases. Chest CT was not performed in the control group of pigeon keepers, and chest X-rays showed no significant findings.

TABLE 4. Laboratory Data

	BFL Patients (n = 86) No. (%)	Pigeon Breeders (Control Group) (n = 60) No. (%)	p Value
Laboratory data			
Leukocytosis (≥9500/mm ³)	19/82 (23)	4/28 (13)	0.4237
Lymphopenia* (≤20%)	15/64 (23)	8/28 (29)	0.6094
Eosinophilia (≥350/mm ³)	12/55 (22)	2/24 (8)	0.2066
Elevated ESR (≥30 mm/h)	22/50 (44)	0/24 (0)	<0.0001
Hypergammaglobulinemia (≥18%)	31/47 (66)	8/26 (31)	0.0066
Elevated IgG (≥650 mg/dL)	16/53 (30)	6/58 (10)	0.0158
Elevated IgE (≥120 U/mL)	12/43 (28)	4/42 (9)	0.0501
Hypercalcemia (≥10.5 mg/dL)	3/39 (8)	0/22 (0)	0.547
Hypercalciuria [‡] (≥250 mg/24h)	8/31 (26)	0/24 (0)	0.0071
Elevated ACE (≥130 U/L)	0/28 (0)	0/24 (0)	0.9999
Elevated LDH [§] (≥350 U/L)	21/41 (51)	0/42 (0)	<0.0001
IgG antibodies to bird antigens			
Total no. of positive results	72/78 (92)	52/60 (87)	0.3945
Positive results against serum of an avian species to which the patient was exposed [¶]	62/67 (93)	—	—
Positive results against serum of an avian species to which the patient was not exposed [¶]	10/11 (91)	—	—

*Lymphopenia was slightly more frequent in acute-phase patients (7/27, 26%) compared with subacute (6/28, 21%) or chronic (2/11, 18%) patients.

[‡]Hypercalciuria was observed in 1/7 (14%) patients in the acute phase, 6/16 (37%) in the subacute phase, and 1/1 (100%) in the chronic phase.

[§]LDH was elevated in 7/17 (41%) patients in the acute phase, 10/20 (50%) in the subacute phase, and 4/4 (100%) in the chronic phase.

[¶]Among the group of 17 cases in which 2 or more sera were tested, positive results against more than 1 type of serum were obtained in 15 (88%) of them.

[¶]Specific serum extracts were not available at the time of the study in these 11 cases; hence, 1 or more different antigenic extracts were tested.

TABLE 6. Immediate Hypersensitivity Skin Testing (IHST)

	BFL Patients*	Pigeon Breeders (Control Group) [†]	p Value
	No. (%)	No. (%)	
Bird serum	54/69 (78)	32/50 (64)	0.292
Pigeon bloom	17/17 (100)	44/50 (88)	0.452
Both	12/17 (71)	30/50 (60)	0.439

*At least 1 positive response was obtained in 59/69 (85%) patients tested: in 42 cases to various serum extracts, in 5 to pigeon bloom, and in 12 to serum and pigeon bloom; in the 19 patients who kept various different birds and underwent tests with different antigenic extracts, more than 1 positive response was elicited in 12 (63%) of them (10 patients with 2, and 2 patients with 3 positive results).

[†]At least 1 positive response was obtained in 46/50 (92%) control pigeon breeders tested.

Immediate Hypersensitivity Skin Testing (Table 6)

IHST was performed in 69 (80%) patients with BFL, and in 50 (83%) control pigeon keepers. In 50 (72%) of the BFL patients, the test was performed with antigen extract from serum or bloom from a single type of bird, in 14 (20%) with extracts from 2 types, and in 5 (7%) with extracts from 3 types. At least 1 positive response was obtained in 85% of BFL patients and in 92% of control pigeon keepers.

Delayed Cutaneous Hypersensitivity Testing

DCHT was performed in 56 (65%) patients. Sixteen of them (29%) had an anergic response and 17 (30%), 17 (30%), 4 (7%), and 2 (4%) had positive responses to 1, 2, 3, and 4 antigens, respectively. The percentages of positive results for candidin, tuberculin, trichophyton, and varidase were 28/56 (50%), 14/56 (25%), 13/56 (23%), and 17/56 (30%), respectively.

Transbronchial Biopsy and Surgical Lung Biopsy (Table 7)

TBB was carried out in 33 (38%) patients and SLB in 14 (16%). Among the 14 patients undergoing SLB during the diagnostic process, 2 (14%) had an acute presentation, 5 (36%) subacute, and 7 (50%) had chronic disease. Six (43%)

TABLE 8. Bronchial Challenge Testing: Sensitivity and Specificity

	Positive Results*	Antigens Used in the Positive Bronchial Challenge Tests (No. of Patients)
BFL patients [†]	54/59 (92%)	Pigeon serum: 37
Sensitivity	92% (83–96)	Parakeet serum: 8
Specificity	100% (88–100)	Canary, dove, and parrot serum: 2
Positive predictive value	100 (95–100)	Hen, turtledove, and goose serum: 1
Negative predictive value	80 (64–89)	
Pigeon breeders (control group)	0/20 (0%)	
Patients with ILD (not BFL) exposed to birds [‡]	0/20 (0%)	

Abbreviations: ILD = interstitial lung disease.

*See Patients and Methods section for criteria for positive results.

[†]Six patients underwent 2 bronchial challenge tests against various avian antigens; 1 of them showed a positive response against 2 different antigen extracts (pigeon and parakeet) and another presented a positive response following direct exposure to different birds in his pet shop (the patient did not want to undergo another bronchial challenge test in the hospital after the first was negative); the 5 (8%) patients with a negative bronchial challenge test were diagnosed with BFL by other means.

[‡]Eight patients with usual interstitial pneumonia, 2 with nonspecific interstitial pneumonia, 8 with sarcoidosis, 1 with bronchiolitis obliterans, and 1 with hemosiderosis.

of the 14 SLB procedures were indicated from our service; the other 8 had been performed in other centers before referral to our hospital. The biopsy specimen was obtained by thoracotomy in 9 patients and by thoracoscopy in 5. In 11 (79%) of these 14 patients, a bronchial challenge test had not been carried out during the process of diagnosis, either because it was not available at the center where the initial study was carried out or because the patient had a functional contraindication for the test. In the other 3 (21%) cases, the diagnosis of HP was later corroborated with bronchial challenge testing.

TABLE 7. Transbronchial Biopsy (TBB) and Surgical Lung Biopsy (SLB) Findings of the Classic Diagnostic Triad for Hypersensitivity Pneumonitis*

	L-H Infiltrate	Poorly Formed Granuloma	Bronchiolitis Obliterans	Findings		
				1 Finding	2 Findings	3 Findings
TBB (n = 33) [†]	22 (67)	7 (21)	6 (18)	14 (42)	6 (18)	3 (9)
SLB (n = 14) [‡]	12 (86)	10 (71)	10 (71)	3 (21)	4 (29)	7 (50) [§]

Abbreviations: L-H = lymphocytic-histiocytic.

*No. (%).

[†]Other findings included alveolitis in 11 (33%) cases, giant cells in 8 (24%), interstitial fibrosis in 7 (21%), and foam cells in 6 (18%). TBB was reported as nonspecific in 3 (9%) patients.

[‡]Other SLB findings were alveolitis in 8 (57%) cases, giant cells in 6 (43%) and foam cells in 3 (21%).

[§]The complete triad was observed in SLB material from 1/2 (50%) patients in the acute phase, 3/4 (75%) patients in the subacute phase, and 3/8 (38%) chronic cases; these 7 patients corresponded to 2 of the 3 who also had a positive SBCT and to 5 of the 11 who did not undergo this test.

All 3 of the characteristic histologic features of HP (lymphocytic-histiocytic infiltrate, poorly formed granulomas, and bronchiolitis obliterans) were found more frequently in SLB than in TBB specimens. In fact, SLB confirmed the diagnosis of HP based on the complete triad in 50% of patients who underwent the procedure; that is, in 8% of the total patient series.

Bronchial Challenge Testing (Table 8)

Bronchial challenge tests were undertaken in 59 (69%) patients with BFL, 20 pigeon keepers, and 20 patients with diffuse interstitial lung disease (not HP) exposed to birds. Of the 86 patients with BFL, the diagnosis was confirmed in 54 (63%) based on the outcome of a bronchial challenge test. The sensitivity and specificity of this test were 92% and 100%, respectively. An example of a positive bronchial challenge test with pigeon serum is shown in Figure 2.

Control Group of Pigeon Keepers

The results regarding symptoms and the various examinations performed in the 60 pigeon breeders are presented in the corresponding tables (Tables 1, 3, 4, 6 and 8).

Population Exposed to Birds in Our Setting

Among the 400 individuals surveyed, 9% reported current contact with birds in their homes for more than 5 hours per week, and 24% reported close contact with birds at home for more than 1 year at some time in their lives.

DISCUSSION

Epidemiology and Demographic Data

The various forms of HP are encompassed in the group of more than 200 entities that make up the diffuse interstitial lung diseases. Development of clinically evident HP depends on individual susceptibility and on the type, intensity, and duration of exposure to the causal agent⁸⁹. It is likely that certain differential factors, such as the climate, geographic location, local customs, or smoking habit, can lead to a differing prevalence of HP among countries. Specifically, in Spain, a 2004 report of a registry¹²⁸ of the incidence of diffuse interstitial lung diseases placed HP as the fifth most frequent (6.6% of cases) of these diseases after idiopathic pulmonary fibrosis, sarcoidosis, cryptogenic organizing pneumonia, and collagen-associated interstitial lung

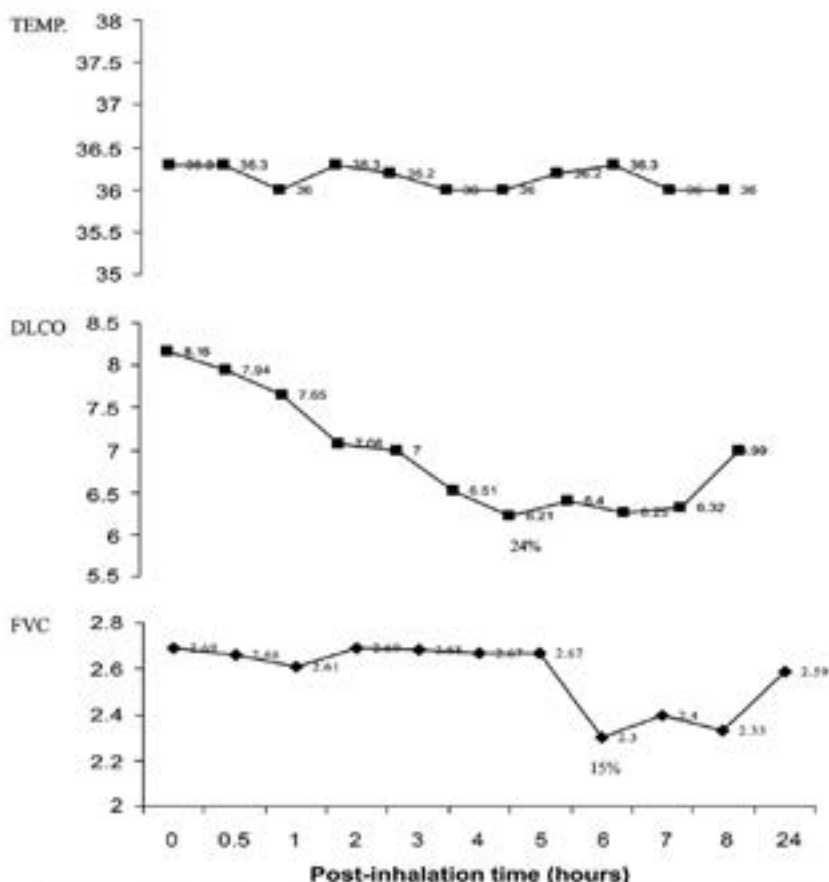


FIGURE 2. Positive result of a bronchial challenge test with pigeon serum: no changes in temperature but a decrease of 24% and 15% in DLCO and FVC, respectively, are observed.

disease. In our center, patients with HP accounted for 15% of the 500 patients with interstitial lung disease seen from 1995 to 2005 in the specialized outpatient clinic for these diseases⁷². These values are in keeping with those recorded in registries from other European countries, such as Belgium (12%) or Germany (11%)¹¹⁸. The prevalence of BFL ranges from 8% to 30% among pigeon keepers belonging to associations of pigeon fanciers^{12,28}, and sensitization may reach 32% among persons with high, continuous exposure³³. In Spain, Rodríguez de Castro et al¹⁰⁵ estimated that 8% of individuals among a large sample of 343 pigeon fanciers had symptoms of BFL. Currently, however, the main cause of new BFL cases is likely to be exposure to pet birds at home, with a reported prevalence among persons exposed to parakeets of 0.5%–7.5%⁴⁶.

The series of 86 patients presented herein, the largest reported to date to our knowledge, reveals that BFL is not an unusual disease in our setting; an average of 3 patients per year are diagnosed with this condition in our service. The study also shows that the affected persons may be exposed to a large number of birds or to only 1 pet bird at home (see Table 1). These latter patients currently represent an increasingly larger percentage of BFL diagnoses in our experience. This is not surprising considering that in the survey performed in 400 of our hospital employees, 9% reported current contact with birds at home during more than 5 hours per week and 24% mentioned a prior history of exposure to birds lasting more than 1 year. The clear predominance of women in our series is also interesting. The proportion of men and women in the various published studies appears to be related to the type of avian exposure under consideration (with pigeon keepers being mainly men) and with certain social, economic, and cultural differences between countries (men predominate in the United States and Europe, and women in Mexico)¹⁰⁶. The predominance of women in our series may be due to the fact that they spend more time at home than men and, therefore, are more prone to lengthy continuous exposure to pet birds, which are usually under their care. Low-level but continuous exposure to avian antigens can induce the development of this type of BFL²¹. Such contact can even favor progression to chronicity, since avian antigens may persist in the home environment for a lengthy period of time despite removal of the bird²⁸. The number of hours per week a person is exposed to birds¹⁰⁵ as well as the concept of bird per number of years should be included in the routine case history of these patients, since these parameters provide a truer assessment of exposure to avian antigens³³. In the current study we found that the latter marker of exposure increased progressively in the successive presentation forms of the disease (see Table 2).

Another noteworthy epidemiologic aspect of the current study was the large proportion of never-smokers in our series (78%). The literature has described a "protective" role of smoking in BFL¹²⁶; in fact, among smokers there was a lower incidence of precipitating antibodies to pigeon antigens and lower titers of serum IgG and IgA antibodies to pigeon intestinal mucin and serum proteins by ELISA, compared with nonsmokers and exsmokers⁷. In addition, sig-

nificantly greater elevations of circulating IgG antibodies against pigeon gammaglobulin have been found in non-smoking pigeon keepers or those with low exhaled CO concentrations (<10 ppb) with respect to those who smoke or have higher exhaled CO levels (>10 ppb)⁴. Thus, it has been suggested that smoking depresses both the T-dependent and T-independent immune response against inhaled antigens⁷. Moreover, experimental studies in rats have shown that nicotine inhibits alveolar macrophages, leading to reductions in the release of tumor necrosis factor and decreases in mRNA expression of tumor necrosis factor, IL-10 and IFN-gamma following stimulation¹⁰.

Our findings, in a series with 14% smokers, seem to concur with these results. However, it should be kept in mind that although our pigeon keeper control group included 41% smokers, other studies have had a lower percentage of smokers (35%) among pigeon keepers¹⁰⁵. Moreover, to properly assess our series, we should take into account that adult women were predominant (75%). According to the Encuesta de Salud de Catalunya (Catalonian Health Survey) of 2002³⁵, the prevalence of smoking among the population over 15 years old is 32%, and the percentage is higher among men (38%) than women (26%). In the present series of BFL patients, 33% of the men and only 8% of the women were smokers. Thus, we can conclude that there were lower percentages of smokers among BFL patients than in the general population. This observation is even more compelling taking into consideration that the prevalence of smoking in our series is clearly lower than the observed rates among the Catalonian population aged 16–64 years at different time periods: in 1982 (M 58%, W 20%), 1986 (M 58%, W 23%), 1990 (M 50%, W 26%), 1994 (M 46%, W 26%) and 1998 (M 44%, W 31%)⁸⁶.

Seven patients in our series were under 15 years of age; BFL in children is infrequent, but not exceptional, being described in case reports²⁰ and even in some limited series¹²². In light of the potentially chronic and progressive nature of this disease, it is particularly necessary to maintain an elevated level of suspicion regarding BFL in children with respiratory symptoms or repeated episodes of fever, and contact with birds. Among adults, we believe it is advisable for bird-exposed individuals with any respiratory symptoms to undergo a yearly respiratory check-up, including a clinical examination and a pulmonary function study with DLCO testing, to facilitate an early diagnosis of the condition in susceptible people.

Etiology

The wide variety of bird species the patients in our series were in contact with exemplifies the known possibility that HP can develop following exposure to many species. Exposure to hens or exclusive contact with canaries has not been widely recognized as a cause of the disease, yet 1 and 2 cases of HP in our series, respectively, were exclusively due to these circumstances.

As an isolated factor, it does not seem that the number of birds involved in the exposure is decisive in triggering the condition. In fact, the control pigeon breeders in our study

possessed a much higher mean number of birds (91 birds) versus the patients (16 birds), although there may have been a component of self-selection in the controls over time; that is, persons noting symptoms may have given up the hobby of raising these birds. Previous studies have described a progressive course of the disease in patients exposed to a few or only 1 bird, and a more acute and episodic course in patients exposed to a large number of birds⁵⁴. Nevertheless, later studies have shown that among patients who have reached the chronic phase, there are as many cases of recurrent acute episodes in patients intensively exposed to numerous birds as cases with a more insidious pattern in patients with low exposure to birds in their home⁸³. It is likely, therefore, that the development and evolution of this disease depends on the interaction of several factors. In any case, the quantification of exposure according to the "bird per years" concept, which combines 2 of these conditioning factors (intensity and duration of exposure) seems highly useful for evaluating these patients. In the current study, there was a higher degree of exposure in the subacute and chronic presentation forms than in the acute form. But, we should not forget that there is a well-recognized individual predisposing factor to the development of HP. Along this line, some authors have suggested that major histocompatibility complex genetic polymorphisms or tumor necrosis factor- α polymorphisms could be related to this predisposition^{15,108}.

Several antigenic substances have been described as causing the development of BFL⁶¹. These include serum proteins (mainly gammaglobulins and albumin), pigeon IgA⁴¹ and pigeon IgG (both of which are present in pigeon dropping extract and bloom)⁵⁷, and pigeon intestinal mucin, a glycoprotein and major carbohydrate antigen that is also present in these 2 antigen sources⁵. Thus, in the various studies published in this field, the antigen source used for the immunologic study of these patients has been serum^{3,6,7,57,63,104}, bloom^{8,57,104}, or pigeon dropping extracts^{3,6}. Because extracts from droppings are likely to contain bacterial endotoxin, teichoic acid, fungal beta-1,4-glucan, and many other substances with nonspecific biological activity as well as microbes, which limit their application in serologic, skin, and inhalation challenge testing⁶¹, we have excluded the use of these substances in our daily clinical practice. Instead, we use serum extract from several birds, since it is readily available and contains the major antigens⁶¹, as well as bloom extract, which possesses some of the avian antigens found in serum and seems to contain other specific antigens that are not present in this source^{57,104}.

With regard to etiology, we make special mention of the 3 patients in our series who used a feather-filled quilt or pillow. Although all 3 of these patients referred to a very limited prior history of contact with birds, we assume that these feather-filled items were the antigenic source causing the symptoms. In fact, suspicion of bird-related products being responsible for BFL symptoms was first raised after the case of a man who had only occasionally been exposed to birds in the past, who described episodic and repetitive acute symptoms of dyspnea, cough, and malaise only after sleeping

in a house where he used to go on weekends. After an exhaustive search for possible antigenic sources, the patient explained that he used to sleep with a feather pillow in that house; symptoms completely disappeared after removing that pillow from the room. It is likely that this form of exposure is underestimated in the series because this question is not usually asked. Nonetheless, in our experience and in other studies, it has been observed that this type of exposure can induce BFL or aggravate existing disease⁶⁰. In reference to this point, when the causal antigen is unknown, it is better to seek an unusual source of exposure to a common antigen rather than to investigate a rare cause; that is, don't look for zebras when horses can do.

Diagnosis, Signs and Symptoms

Diagnosis of BFL is based on the presence of consistent clinical symptoms, confirmation that the patient has been exposed and is sensitized to a causal agent, consistent chest X-ray and CT imaging findings, evidence of increased lymphocytes on BAL study, demonstration of consistent histologic features, and/or a positive bronchial challenge test. According to some experts, these are the 6 major diagnostic criteria¹⁰⁰. To confirm the diagnosis, at least 4 of the 6 criteria must be met, as well as at least 2 of the following 3 minor criteria: auscultation of bilateral crackles, decreased DLCO, and hypoxemia at rest or on exertion¹⁰⁰. Confirmation of an improvement when exposure to the antigen is discontinued is also a criterion to take into consideration⁸⁹. The diagnostic algorithm used in our center (see Figure 1) follows the criteria established by experts⁷⁶.

As has been indicated by these experts⁸⁹, although fulfillment of the established criteria constitutes a useful guide for diagnosis, their strict application is not justified in practice, since the diagnosis in patients with suspected BFL can be made on the basis of typical clinical characteristics, presence of exposure to a known antigen, and clinical improvement when contact with the antigen is avoided. To assess more precisely the diagnostic yield of these "clinical characteristics," a multicenter study⁸⁶ was undertaken to investigate the clinical diagnosis of HP. The authors concluded that the diagnosis can be sustained in 98% of the cases when the following criteria are met: 1) exposure to known antigen, 2) demonstration of specific IgG in serum; 3) recurrent symptomatic episodes; 4) auscultation of crackles; 5) symptoms 4–8 hours following exposure; and 6) weight loss.

Before the complementary tests used in our series to diagnose BFL, which will be discussed later, immunologic tests had been performed to disclose activation of cellular immunity. These tests have proved effective in the diagnosis of BFL in studies by other authors⁴⁸, and in reports from our group in patients with BFL⁶⁹ and farmer's lung⁶⁷. In the case of BFL⁶⁹, we found T lymphocyte activation in 83% of patients and only 14% of asymptomatic pigeon breeders. However, because of the technical difficulty of the tests and the time required to perform them, these tests have now fallen into disuse for routine diagnosis of these diseases. In fact, we prefer to use IHST in our diagnostic algorithm, as

this immunologic test showed even higher sensitivity and specificity than T lymphocyte activation in our previous studies, and it is much less time consuming⁶⁶.

Diagnostic delay is a crucial aspect in the evolution of this disease. The lengthy interval observed may be attributable to the still low index of suspicion for BFL and the added difficulty of a delay in the onset of symptoms following exposure to the causal agent. The most striking epidemiologic differences between patients diagnosed in the chronic phase (17%) compared with those diagnosed in the acute and subacute phases were a significantly greater diagnostic delay and mean exposure time before diagnosis (see Table 2). Hence we can conclude, as indicated in a prior study by our group³², that the duration of exposure and the delay before diagnosis are decisive prognostic factors in the evolution of BFL.

Along this line, in a retrospective review of 72 patients with various forms of chronic HP diagnosed by surgical biopsy (29% with BFL), the evolution time of the symptoms was significantly higher ($p = 0.05$) among patients who had developed lung fibrosis (2.8 yr) relative to those without fibrosis (1.8 yr). Moreover, mean survival was 7.1 years in the fibrosis groups and more than 21 years in those without fibrosis¹²⁴. A retrospective review of 18 patients with BFL concluded that the poorest prognosis is in patients initially diagnosed in the chronic stage of the disease, who rarely showed a clinical improvement despite discontinuation of antigenic exposure¹³¹. It is clear that all our efforts in the diagnostic process should be directed toward early recognition of this disease.

As to the physical examination, all the asymptomatic pigeon breeders and 15% of BFL patients presented a strictly normal examination at the time of diagnosis; hence, a normal examination does not exclude BFL. The typical feature of inspiratory crackles on pulmonary auscultation (80% of patients) in a large series such as this provides support for the idea suggested in the literature⁵⁶ that this finding is a predictive factor for HP in exposed patients; in fact, crackles were not detected in any of the control pigeon breeders. Digital clubbing at the time of the diagnosis was found in a small percentage of our patients (7%) and most of them (83%) were in the chronic stage of the disease. These findings differ from the results of another study in which digital clubbing was seen in 51% of the patients and the incidence was similar in the 3 stages of disease defined by the authors¹⁰⁷. Nevertheless, the 2 studies agree on the fact that digital clubbing seems to be associated with a poor prognosis (in the aforementioned study¹⁰⁷, clinical deterioration was more frequent among patients with digital clubbing).

The prevalence of the various clinical manifestations of BFL in our patients, with a predominance of dyspnea, cough, and fever (see Table 3), did not differ substantially from those described in other series of BFL^{30,73} or the overall values in HP¹¹⁵. Almost 25% of our patients presented grade III or IV dyspnea at the time of the initial diagnosis, a fact that provides additional evidence of the delay in diagnosing this condition. As is well recognized,

fever was seen more often in patients diagnosed in the acute phase of the disease (82%), who present fever following episodic exposure to avian antigens, compared with subacute (32%) and chronic (27%) cases. Therefore, in many cases this manifestation can be very helpful for establishing an initial diagnosis suspicion. The observed presence of cough and expectoration in asymptomatic pigeon breeders (although infrequent), in the absence of alterations on spirometry and imaging studies, may be justified as a consequence of the irritating effect on the airways of massive exposure to avian feces, bloom, or epithelial products, which would manifest as simple chronic bronchitis¹¹. Some authors have even suggested that symptoms of chronic bronchitis should be considered a minor part of the clinical spectrum of BFL¹⁰⁵. This idea is sustained by the fact that such symptoms occurred in 15% of pigeon breeders who did not present other risk factors for their development, but did show a significantly higher level of specific IgG antibodies to pigeon serum compared to breeders without these symptoms¹⁰⁵.

There are few reports describing symptoms of rhinitis or conjunctivitis following antigenic exposure in patients with HP. In the current series, 35% and 25% of BFL patients who had been systematically questioned about these manifestations presented symptoms of rhinitis and conjunctivitis, respectively, as compared to 22% and 7%, respectively, of the control group. These rates do not differ substantially from those described by other authors in studies performed in pigeon breeders. Rodriguez de Castro et al¹⁰⁵ reported a 31% incidence of rhinitis in the 343 pigeon breeders studied in Gran Canarias (Spain), and Charitopoulos et al¹⁷ reported 31% of rhinitis and 26% of conjunctivitis among 54 breeders investigated in Salónica (Greece). Other authors¹²¹ have described specific IgE antibodies in 18% of parakeet fanciers and 25% of canary fanciers, all of whom had symptoms of rhinitis and/or bronchial asthma. These findings suggest an allergic origin of these symptoms in a percentage of the patients, which would be in agreement with the IgE elevation detected in 28% of our series. Reasons for the paucity of upper tract symptoms in HP are unknown. We might speculate with 2 hypotheses: the capacity of nasal mucus and cilia to prevent the deposition of larger antigenic particles, and the tendency for smaller antigenic particles to reach bronchi and alveoli where they remain for a longer time and, consequently, may induce a stronger immunologic response. Lastly, a late nasal response (and sometimes a dual response) has been described following nasal challenge with pigeon dropping extract in 53% of patients with allergic rhinitis regularly exposed to pigeons⁹⁰. In this last study, however, precipitating antibodies to pigeon droppings were found in 80% of the patients, general malaise in 52%, elevated peripheral blood eosinophils in 28%, and increased body temperature in 36% of the cases following nasal challenge testing. These findings led the authors to suggest that there is also a nasal form of BFL. In fact, some authors have performed nasal biopsy to investigate the presence of granulomas as a method to diagnose some forms of HP⁹⁴ and BFL¹²³.

Laboratory Data

The analytical results obtained in this series were nonspecific, as also occurs in other forms of HP. The incidence of related findings (leukocytosis, hypergammaglobulinemia, eosinophilia) is similar to the values obtained in a previous study by our group performed in 25 patients⁷⁰. ESR stands out as a nonspecific marker of the disease, with elevated values at the time of diagnosis in 44% of patients and no cases of elevated values among the asymptomatic pigeon breeders, a datum that has received little attention in the literature.

Although it is known to occur²⁶, the finding of peripheral lymphopenia in 23% of patients with BFL at the time of diagnosis is worthy of mention. We also observed this fact in sarcoidosis⁷⁵, another disease that shows histologic features of lung lymphocytic and granulomatous inflammation. In both entities, this finding can be attributed to a compartmentalization of the immune response during acute inflammation⁴⁹. It is noteworthy that in the current study, we found a similar incidence of peripheral lymphopenia (29%) among the control pigeon breeders, who, as was mentioned, were exposed to a large number of pigeons. Previous studies have shown that lymphocytic alveolitis on BAL can occur in both asymptomatic exposed farmers²³ and asymptomatic pigeon breeders¹⁰¹. Thus, the explanation for the peripheral lymphopenia found in our controls could be the same as that described for BFL patients, namely, it is secondary to an accumulation of lymphocytes in the lung due to an intense antigenic exposure.

Given that BFL is a granulomatous disease like sarcoidosis, with a form of presentation sometimes similar to sarcoidosis, and that during the active phases of sarcoidosis levels of ACE are often elevated⁷⁵, it seems logical that this enzyme, which is synthesized by giant cells and epithelioid cells of the granulomas, might also be elevated in BFL. Nonetheless, ACE was not found to be elevated in any of the 28 BFL patients undergoing this test. These findings agree with a previous report⁶⁰, which concluded that the granulomatous reaction in HP can differ from that of sarcoidosis at the enzymatic level. In fact, granulomas are fewer in number and are anatomically less well formed in BFL than in sarcoidosis.

Plasma LDH values were elevated in approximately half of patients with BFL undergoing this test, whereas there were no elevations in the control breeders (see Table 4). Elevated LDH was found in up to 80% of cases in a series of 38 patients with farmer's lung⁹⁷. A comparative study showed higher LDH levels in 10 patients with HP than in 36 patients with sarcoidosis or 47 with cryptogenic fibrosing alveolitis, although the authors had hypothesized that LDH might be a useful marker of activity in these diseases⁵⁹. In our experience, LDH is elevated in a large percentage of diffuse interstitial lung diseases, which makes it a very nonspecific marker.

With respect to calcium metabolism, we observed a higher frequency of hypercalciuria (26%) than of hypercalcemia (8%). The same happens in sarcoidosis, in which hypercalciuria is found up to 6 times more often than

hypercalcemia in the active phase, and is occasionally seen in the inactive phase of the disease⁷⁵. None of the pigeon breeders in the control group presented hypercalcemia or hypercalciuria. Thus, elevated urinary calcium, LDH, and ESR in a bird fancier may constitute a combined marker for suspected BFL.

Determination of Specific IgG Antibodies

It is well recognized that specific IgG antibodies against avian antigens are a marker of exposure, but not of disease⁸⁹. Using the ELISA technique described above with pigeon bloom and serum, we previously found 100% positive results for both extracts in patients with BFL and about 50% among asymptomatic pigeon breeders¹⁰⁴. However, in the current series, which contains a much larger number of patients, positive results were documented in 92% of BFL patients, but also in 72% and 87% of the control breeders, using serum and bloom antigens, respectively. We believe that this higher frequency of positive findings among the controls with respect to the former study may be due to the fact that in the present series the number of birds the controls were exposed to was very high, at a mean of 91 pigeons. This hypothesis concurs with the results of another study⁸³ in which the presence of specific IgG antibodies in chronic BFL patients was much higher in those with elevated antigenic exposure and recurrent episodes of symptoms (87%) than in those with less intense exposure and more insidious symptoms (35%). Along this line, a significant association has been found between specific IgG antibody levels and the hours per week of exposure and number of birds with which the patient was in contact¹⁰⁵.

It is noteworthy that a high percentage of our patients presented specific IgG antibodies against the serum of bird species other than those they were in contact with. This suggests the existence of a cross reaction between serum antigens of different species, probably because they share common antigens. This has been suggested by other authors who reported that antigens from pigeon serum seem sufficient to recognize immune sensitivity to most of the common pet avian species⁶³.

Chest X-Rays and Computed Tomography

The chest X-ray can show a variety of findings in patients with HP, from completely normal features to an alveolar, interstitial, or alveolar-interstitial pattern. Chest X-rays performed in the current study disclosed a clear predominance of interstitial pattern (79%), mainly of a reticular type (58% of them), which was independent of the phase of the disease (see Table 5). It is noteworthy that in a series in which 60% of the patients present a subacute or chronic form of the disease, only 4% of the chest X-rays performed disclosed lesions in an apical location, when this is the site of involvement typically described in the more advanced forms of the disease¹¹¹. In contrast, we found a predominance of basal or diffuse involvement, not only in the X-rays, but also the CTs, as has been reported in previous studies using chest CT scanning⁷⁸. X-rays were normal in 12% of the cases, but CT scans were normal in only 2% of

patients. This illustrates, as would be expected, the higher sensitivity of chest CT relative to X-rays, a technique that can miss the alterations, even in patients with significant functional deterioration¹¹⁶.

Moreover, CT provides much more precise information on the status of the lung parenchyma and airways. Although there is often some overlap of the findings occurring in each stage of HP, a characteristic feature in the acute phase is confluent micronodular opacities, and in the subacute phase, areas of ground glass, centrilobular nodules, air trapping, and a mosaic pattern. The chronic phase shows irregular subpleural linear opacities, distorted pulmonary architecture, and sometimes, honeycombing⁴⁵. Specifically, the combination of a mosaic pattern with ground glass areas and centrilobular nodules is highly suggestive of the diagnosis⁴⁰. Areas of ground glass and a reticular pattern have been correlated with restrictive abnormality on PFT⁴³, whereas air trapping in a mosaic pattern has correlated with an increase in the residual volume⁴³. Our CT scanning results in 41 patients with BFL are highly representative of these features. Effectively, the 2 most common findings were areas of ground glass (68%), as has been observed in other series⁶⁵, and air trapping in a mosaic pattern (61%). It is interesting that these ground glass areas, classically considered to be representative of disease activity⁹, were found in similar percentages in the 3 clinical forms of BFL. In contrast, air trapping in a mosaic pattern was much more common among patients diagnosed in the acute (58%) and subacute (75%) phases of the disease than among those in the chronic phase (33%). This is not surprising since an inverse correlation has been described between the fibrosis score on high-resolution chest CT and the extent of air trapping in patients with chronic HP or idiopathic pulmonary fibrosis¹³². We also observed that septal thickening and fibrosis (to a greater or lesser degree) were detected only in patients in the subacute (40%) or chronic phases (44%), and honeycombing was present only in chronic patients (33%). Previous studies in patients with pulmonary fibrosis have demonstrated the value of CT as a tool for differentiating between chronic HP and idiopathic pulmonary fibrosis⁵⁸. In a series of 12 patients with chronic HP and 12 others with idiopathic pulmonary fibrosis, CT had a sensitivity for diagnosing these conditions of 50% and 92%, and a specificity of 75% and 83%, respectively¹³². Currently, however, it is known that HP can progress to a form of nonspecific interstitial pneumonia or to a form of idiopathic pulmonary fibrosis⁸² (as was seen in the chronic phase of the disease in 2 of our patients in whom a SLB was performed); hence, a diagnosis based merely on clinical and radiologic evidence may be even less precise¹.

It is noteworthy that CT disclosed areas of emphysema in 7 (17%) of the patients studied, 5 never-smokers and 2 smokers of less than 20 cigarettes per day. Although only 1 of these patients showed a predominantly obstructive alteration on functional studies (the others were predominantly restrictive), this CT feature has been described mainly in smoker patients with other types of HP^{22,37,58}; in patients with farmer's lung^{22,37}, in whom it is even more common

than fibrosis in the long term²²; and very occasionally in BFL⁹⁹. Thus, the possibility of a diagnosis of HP should also be kept in mind when signs of emphysema are seen on the chest CT scan.

In conclusion, we think that CT scan might be placed in a prior step than it is in the HP diagnosis algorithm shown here, together with other initially noninvasive first choice complementary tests, such as chest X-ray and PFT. We support this hypothesis because of its easy availability, non-invasive nature, and usefulness in showing characteristic findings of all 3 BFL disease stages (acute, subacute, and chronic), which are frequently undetected in chest X-ray.

Immediate Hypersensitivity Skin Testing

The utility of IHST for diagnosing the various types of HP has been investigated by several authors. Special attention was first paid to the late reaction, which was thought to be more specific for the diagnosis⁹². Later, several studies reported positive immediate cutaneous reactions in specific skin tests performed in HP patients³⁸. Among them, 2 from our group showed that specific skin tests are effective in discriminating between HP patients and asymptomatic bird fanciers⁶⁰ and farmers⁶⁸, particularly in the case of an immediate reaction. The sensitivity and specificity of the test were 90% and 85%, respectively, using bird serum extract in BFL, and 83% and 72%, respectively, using hay extract in farmer's lung. These immediate hypersensitivity reactions have been attributed to the role of an IgG subclass rather than IgE⁶⁶.

The high sensitivity of this diagnostic technique was again illustrated in the current study, in which a positive result was elicited in 85% of patients. Nevertheless, it was surprising to see the considerable percentage of asymptomatic pigeon breeders who also had a positive response to this test: 64% with pigeon serum extract and 88% with pigeon bloom extract. Conversely, in the study cited above⁶⁶, a positive response was elicited in only 5% (3/20) of asymptomatic bird fanciers (including very few pigeon breeders) and 0% (0/10) of unexposed individuals. Considering the following factors: 1) the immediate skin reaction⁶⁶ is attributed to an IgG subclass; 2) there seems to be a correlation between the titer of specific serum IgG antibodies and the diameter of the wheal in the specific skin test among patients with BFL⁶²; and 3) the elevated percentage of asymptomatic control pigeon breeders with these antibodies in our series (87% for serum extract), it would be reasonable to attribute the positive results in the controls to their extremely high degree of exposure.

With regard to positivity against 1 or the other antigen and the fact that positive IHST status was higher in both BFL patients and controls with the use of bloom extract (100% and 88%, respectively) compared to serum (71% and 64%, respectively), a study by our group showed that values for specific IgG antibodies against bloom extract tripled those observed against serum extract in a group of pigeon breeders; moreover a higher number of breeders presented specific antibodies against bloom than against serum¹⁰⁴. These results, which are similar to those of other authors⁸, suggest that bloom extract is a more potent antigenic source than

serum extract¹⁰⁴. Longbottom et al⁵⁷ identified 29 antigenic components in bloom and only 10 in serum and reported a certain antigenic similitude between the 2 sources, but suggested that some of these antigens are specific. Further investigation is needed to confirm the yield of this test in keepers of a small number of birds.

In our opinion, determining specific IgG antibodies and IHST are still essential in any HP diagnostic study, not only because a sensitizing agent must be identified, but also because of their previously described high diagnostic sensitivity and specificity^{66,68,104}. The large number of positive results with these immunologic tests among our pigeon breeders control group suggests that maybe these tests are not so useful when studying highly exposed individuals. Nevertheless, taking into account that BFL is being increasingly diagnosed among individuals with pet birds at home, their use is still recommended.

Delayed Cutaneous Hypersensitivity Testing

In a previous study, we found that the mean diameter of the wheal obtained with DCHT was significantly smaller in a group of 13 patients with BFL and another group of 34 sarcoidosis patients compared with the results in a control group of 50 asymptomatic individuals⁸⁴. We concluded that in BFL cellular immunity may be depressed, as occurs in sarcoidosis⁷⁵; moreover, the immunosuppression persisted at 1 year. Findings in the current study complement and support the conclusions derived from that earlier study⁸⁴.

Pulmonary Function

PFTs in HP usually show restrictive ventilatory impairment with a reduction in lung volumes and frequent alterations in the CO diffusing capacity¹⁰². At times, however, an obstructive component may manifest, with a decreased FEV₁/FVC ratio, attributed to bronchiolitis (obstruction of the small airways)^{74,89} or emphysema, particularly in the chronic stage of the disease¹³³. The results of the current study demonstrate that a restrictive pattern (77%) is also the most common among BFL patients, as has been reported⁶⁵, although 9% and 4% of them showed a pure obstructive and a mixed ventilatory impairment, respectively.

Development of obstructive ventilatory impairment is infrequent in patients with BFL, but airway involvement, alone or in association with interstitial involvement, has been described previously¹¹². In many cases, however, the obstruction has predominantly affected the small airways, with a decrease in the mid-expiratory flow¹². The cases described in the present study are similar to the 6 cases of persistent obstruction reported in a prior follow-up study of 16 patients with BFL¹³¹, most of whom had never been smokers, as was the case with our patients. The obstruction affected the central airways in all cases, with decreases in FEV₁/FVC ratio and FEV₁ values. After several years of follow-up, the functional evolution of these patients showed chronic obstruction. Another study reported an obstructive abnormality with FEV₁/FVC ratio <70% in patients with chronic HP (29% of them with BFL), particularly in the subgroup of cases with no pulmonary fibrosis¹²⁴. As to air

trapping, we believe that the higher rate of this finding in static lung volume determinations (26%) with respect to the obstruction documented by spirometry (9%) is an indication that air trapping in these patients is often secondary to small airway involvement alone. This is corroborated in the vast majority of cases by chest CT features of a mosaic air trapping pattern without signs of emphysema (see Table 2).

The lung function results we present indicate that the ventilatory impairment in patients with BFL, which is mainly restrictive, can be quite severe; the mean FVC value in the series was 66% of the predicted value. In addition, it has been demonstrated that persistent exposure to avian antigens leads to more accelerated functional deterioration in patients with BFL compared with healthy controls¹⁰⁹. Moreover, the greater the development of fibrosis, the greater is the patient's restrictive alteration¹²⁴. Most of our patients also presented a decrease in the DLCO, which was severe in many cases (<50% of the predicted value in 51% of patients). In fact, the DLCO demonstrated a higher sensitivity, being more frequently decreased (85% of cases) than the FVC (76% of cases), as has been reported¹²⁹. It is clear that functional deterioration can be very severe in these patients and can lead to an irreversible clinical situation in which the only therapeutic option is lung transplantation, as occurred in 3 of our patients.

Blood gas assessment, which was performed only in patients with a higher degree of dyspnea (34 cases), revealed that 41% presented respiratory failure (PaO₂ <60 mm Hg)¹²⁷ at the time of diagnosis. As expected, the highest percentage of cases with respiratory failure corresponded to patients in the chronic stage of the disease (71%), many of whom had advanced pulmonary fibrosis. Nevertheless, we should also mention the quite high percentage of acute (38%) and subacute (29%) patients showing respiratory failure on blood gas analysis, which may have occurred following a specific massive exposure or after continuous exposure to a less intense antigenic load. These findings suggest that BFL should be considered severe not only in cases where there is progressive clinical and functional deterioration, but also in cases of episodic symptoms, which can be life threatening, as we have described in patients with espartosis³⁹.

Bronchoalveolar Lavage

The characteristic profile of BAL material in patients with HP is that of lymphocytic alveolitis with a predominance of CD₈ T lymphocytes, in contrast to sarcoidosis, in which there is usually a predominance of CD₄ T lymphocytes⁴³. However, this cellular profile depends on the time since the last antigenic exposure. CD₈ suppressor T cells predominate in BAL of patients recently exposed to avian antigens and gradually decrease in number with cessation of exposure⁷⁵; the total of T lymphocytes remains elevated, however, because of a parallel increase in CD₄ T cells³⁶. In addition, neutrophilia is characteristic during the acute postexposure phase⁷⁹, particularly during the first 48 hours⁸¹. Increased neutrophils are also seen in patients with progression to fibrosis⁸⁷. In our series (n = 36), lymphocytosis was the most characteristic finding regardless of the phase of

the disease (see Table 2). Even though some chronic patients showed neutrophil values of up to 14% or 15% of the cell count, the percentages of lymphocytes were always higher than normal. Other studies have also reported frequent findings of lymphocytosis in BAL specimens of chronic patients, which in the study by Ohtani et al⁸² reached more than 20% in 68% of the cases and more than 15% in 80% of BFL patients showing a histologic pattern of usual interstitial pneumonia, nonspecific interstitial pneumonia, or cryptogenic organizing pneumonia.

As to the T lymphocyte subpopulations, the finding of an inverted CD₄/CD₈ lymphocyte ratio in 8/13 (62%) of our patients is also in keeping with the known predominance of CD₈ T cells in BAL specimens of BFL patients. The presence of a CD₄/CD₈ lymphocyte ratio >1.2 does not exclude the diagnosis, however. In fact, 5 (38%) of our patients had this finding. If CD₈ T lymphocytes gradually decrease in number with cessation of exposure²⁵, it would be reasonable to expect that CD₄/CD₈ ratios >1.2 would be less frequent in patients with an acute presentation of the disease after high antigenic exposure. However, this was not so in our series, where the incidence of this finding did not significantly differ between the 3 forms of the disease (see Table 2). Nonetheless, the CD₄/CD₈ lymphocyte ratio was determined in only 13 patients, which limits the possibility of deriving conclusions from these data.

In any case, BAL is of considerable diagnostic value, particularly in typical cases. It is known that lymphocyte values above 60% together with detection of more than 1% of mast cells is diagnostic of HP¹¹⁴.

Transbronchial Biopsy

With regard to TBB results, the previously described histopathologic features of HP are distinctive but not pathognomonic⁹². The fact that only 9% of our patients showed the histopathologic triad of characteristic findings in HP illustrates that this procedure rarely leads to a definite diagnosis in patients with suspected BFL, as is also the case in patients with farmer's lung⁵⁵. However, the presence of at least 1 of these findings in 69% of cases indicates that the results of TBB can provide the basis to consider a diagnosis of BFL feasible and prompt additional tests before BFL is ruled out. It is important to remember that the diagnostic performance of TBB is highly dependent on the quality of the biopsies obtained. In this sense, the number of specimens obtained is also a determinant factor in the diagnostic performance of this test, with 4 to 6 samples being recommended³⁴.

Surgical Lung Biopsy

SLB is required to establish the diagnosis in very few cases of HP. It is generally not needed in the acute forms because the causal relationship is easier to establish and the diagnosis can be made on the basis of clinical criteria. In the subacute and chronic stages, however, the clinical symptoms can overlap, there is a weaker relationship in time between the symptoms and exposure, and the development of lung fibrosis may be indistinguishable from the features of usual interstitial pneumonia or nonspecific interstitial pneumonia

on high-resolution CT⁸². Thus, SLB may be occasionally needed to reach a precise diagnosis.

It has been established that patients with HP in the chronic phase can develop fibrosis, which on histologic study presents as usual interstitial pneumonia-like lesions^{19,52} or nonspecific interstitial pneumonia-like lesions^{19,125}. More recently, however, and specifically in patients with chronic BFL who have already developed pulmonary fibrosis, another pattern has been added to those already included in the American Thoracic Society/European Respiratory Society consensus criteria for the classification of idiopathic interstitial pneumonia¹²⁰; cryptogenic organizing pneumonia-like lesions⁸². Moreover, COPD-like and cellular nonspecific interstitial pneumonia-like lesions have been correlated with a better prognosis, and fibrotic nonspecific interstitial pneumonia-like and usual interstitial pneumonia-like lesions with a poorer one⁸². Therefore, some authors have concluded that HP in the chronic stage is likely to be underdiagnosed, with some cases classified as a form of idiopathic interstitial pneumonia, particularly patients having an insidious clinical course and lacking a suitable immunologic study or exhaustive clinical history¹³⁰. It has been shown that a meticulous clinical history, with specific questions on antigenic exposure, and proper use of complementary diagnostic tests can help to decrease the need for SLB⁴². In fact, a previous study retrospectively assessing the presence of organic antigenic agents at work and at home in patients diagnosed with idiopathic interstitial pneumonia showed significant amounts of these agents in the majority of cases, suggesting that they may have had a causal effect in patients whose condition had been classified as idiopathic⁵¹. In a review of patients with nonspecific interstitial pneumonia¹⁰⁰, we observed a history of significant exposure to birds in 7/16 (44%) cases, although specific IgG antibodies against avian antigens were observed in only 25% of the patients undergoing this determination.

In the current series of 86 patients with BFL, only 14 (16%) underwent SLB and, as was mentioned above, 8 of the 14 (57%) SLBs had been performed before the patient was referred to our service. Thus, in our experience, the need to indicate SLB is exceptional. This may be because a large number of cases (69%) underwent bronchial challenge tests, which yielded a high percentage of positive results (92%) and allowed establishment of the definite diagnosis without the need for surgery. The fact that 12 of the 14 patients undergoing SLB (86%) were in the subacute or chronic phase of the disease indicates that in these subgroups, SLB may occasionally be needed. In this sense, the possibility that the cause of idiopathic pulmonary fibrosis or nonspecific interstitial pneumonia may be HP, whether BFL or another form, will now increase the indications for confirmational SLB, since the treatment is very different in these conditions, particularly the use of corticosteroids, which may be effective if the cause is HP. When performed, the diagnostic yield of SLB in the 14 patients was high (see Table 7).

Bronchial Challenge Testing

One of the most novel aspects of the current study is that in 54 of 86 (63%) patients the diagnosis of BFL was

confirmed by a positive bronchial challenge test, which, in a disease where the diagnostic criteria are sometimes imprecise, lends greater reliability to the diagnoses obtained. This test, known to be highly useful for diagnosing HP⁷⁹, has demonstrated a sensitivity and specificity of 100% in some studies for the specific diagnosis of BFL, even in cases in the chronic stage of the disease, when this test can be beneficial for the differential diagnosis with idiopathic lung fibrosis^{81,96}. In the current study, which assesses the diagnostic yield of bronchial challenge testing in daily practice, the sensitivity of 92% and specificity of 100% confirm this test as a useful tool for BFL diagnosis. Another interesting aspect of this test is that a positive response was obtained not only to pigeon serum, but also to serum of other birds, such as parakeet, canary, dove, parrot, cockatoo, and in 1 case even to hen serum, an antigen that rarely produces this disease.

This kind of bronchial challenge testing must be performed in a hospital setting, by experienced staff and with the support of a laboratory where high-quality antigenic extracts can be prepared. Severe exacerbations are very rare and the procedure is safe under these conditions⁸⁹. Thus, only respiratory departments of reference hospitals should perform these bronchial challenge tests.

These technical requirements and the need for a previous and accurate immunologic approach to identify patient sensitization, justify why bronchial challenge testing is located at almost the last step of the diagnostic algorithm, despite its high sensitivity and specificity. It must be noted, however, that the diagnostic algorithm described here is not the result of our experience after 27 years of studying BFL patients, but the one that we have followed during all this time, which was based on previously reported data on HP diagnosis. In view of our results, which confirm those observed in smaller series^{81,96}, we think that bronchial challenge testing must be considered now as the "gold standard" among the noninvasive BFL diagnostic examinations. We emphasize that none of our patients had a severe reaction to the test, which, considering the large number of tests carried out, underscores the safety of bronchial challenge testing when the established protocol is followed.

REFERENCES

1. American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS) and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:646-664.
2. Anders GT, Johnson JE, Bush BA, Matthews JE. Transbronchial biopsy without fluoroscopy. A seven-year perspective. *Chest.* 1988;94:557-560.
3. Andersen P, Christensen KM, Jensen BE, Axel K, Laursen JC, Geday H, Lundgaard A, Andersen HK. Antibodies to pigeon antigens in pigeon breeders. Detection of antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Eur J Respir Dis.* 1982;63:113-121.
4. Anderson K, Morrison SM, Bourke S, Boyd G. Effect of cigarette smoking on the specific antibody response in pigeon fanciers. *Thorax.* 1988;43:798-800.
5. Baldwin CI, Stevens B, Connors S, Todd A, Bourke SJ, Calvert JE, Allen A. Pigeon fancier's lung: the mucin antigen is present in pigeon droppings and pigeon bloom. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998;117:187-193.

6. Baldwin CI, Todd A, Bourke SJ, Allen A, Calvert JE. IgG subclass responses to pigeon intestinal mucin are related to development of pigeon fancier's lung. *Clin Exp Allergy.* 1998;28:349-357.
7. Baldwin CI, Todd A, Bourke SJ, Allen A, Calvert JE. Pigeon fancier's lung: effects of smoking on serum and salivary antibody responses to pigeon antigens. *Clin Exp Immunol.* 1998;13:166-172.
8. Banham SW, McKenzie H, McSharry C, Lynch PP, Boyd G. Antibody against a pigeon bloom-extract: a further antigen in pigeon fancier's lung. *Clin Allergy.* 1982;12:173-178.
9. Battista G, Sassi C, Zampatori M, Palmari D, Canini R. Ground-glass opacity: interpretation of high resolution CT findings. *Radiol Med (Torino).* 2003;106:425-442.
10. Blanchet MR, Israel-Assayag E, Cormier Y. Inhibitory effect of nicotine on experimental hypersensitivity pneumonitis in vivo and in vitro. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:903-909.
11. Bourke S, Anderson K, Lynch P, Boyd J, King S, Banham S, Boyd G. Chronic simple bronchitis in pigeon fanciers. Relationship of cough with expectoration to avian exposure and pigeon breeder's disease. *Chest.* 1989;95:598-601.
12. Bourke SJ, Carter R, Anderson K, Boyd J, King S, Douglas B, Boyd G. Obstructive airways disease in non-smoking subjects with pigeon fancier's lung. *Clin Exp Allergy.* 1989;19:629-632.
13. Bourke SJ, Dalphin JC, Boyd G, McSharry C, Baldwin CI, Calvert JE. Hypersensitivity pneumonitis: current concepts. *Eur Respir J.* 2001;18(Suppl. 32):81s-92s.
14. Calvert JE, Baldwin CI, Allen A, Todd A, Bourke SJ. Pigeon fancier's lung: a complex disease? *Clin Exp Allergy.* 1999;29:166-175.
15. Camarena A, Juarez A, Mejia M, Estrada A, Carrillo G, Falfan R, Zuniga J, Navarro C, Grandados J, Selman M. Major histocompatibility complex and tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:1528-1533.
16. Carrillo-Rodriguez JG, Samores RH, Castrejon A, Perez-Padilla R, Ramirez-Venegas A, Selman M. Hypersensitivity pneumonitis in Mexico City. *Salud Publica Mex.* 2000;42:201-207.
17. Charitopoulos K, Gioulekas D, Sichelidis L, Chloros D, Vamvakopoulou V, Zarogoulidis K. Hypoxemia: an early indication of pigeon breeder's disease. Clinical and laboratory findings among pigeon breeders in the Salonica area. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2005;15:211-215.
18. Christensen LT, Schmidt CD, Robbins L. Pigeon breeder's disease: a prevalence study and review. *Clin Allergy.* 1975;5:417-430.
19. Churg A, Muller NL, Flint J, Wright JL. Chronic hypersensitivity pneumonitis. *Am J Surg Pathol.* 2006;30:201-208.
20. Cobos N, Canals J, Linas S, Evangelista A, Ituriz G, Barquet N. Pulmon del cuidador de pajaros en la infancia. *Allergol Immunopathol.* 1980;8:637-642.
21. Coleman A, Colby TV. Histologic diagnosis of extrinsic allergic alveolitis. *Am J Surg Pathol.* 1988;12:514-518.
22. Cormier Y, Brown M, Worthy S, Racine G, Muller NL. High resolution computed tomographic characteristics in acute farmer's lung and in its follow-up. *Eur Respir J.* 2000;16:56-60.
23. Cormier Y, Letourneau L, Racine G. Significance of precipitins and asymptomatic lymphocytic alveolitis: a 20-year follow-up. *Eur Respir J.* 2004;23:523-525.
24. Cormier Y. Hypersensitivity pneumonitis. In: *Occupational Disorders of the Lung*. Hendrick DJ, Buge PS, Beckett WS, Churg A, eds. London: Saunders; 2002:230-239.
25. Costabel U, Bross KJ, Marxen J, Matthys H. T-lymphocytosis in bronchoalveolar lavage fluid of hypersensitivity pneumonitis. Changes in profile of T-cell subsets during the course of disease. *Chest.* 1984;85:514-522.
26. Costabel U, Bross KJ, Ruhle KH, Lohr GW, Matthys H. Ia-like antigens on T-cells and their subpopulations in pulmonary sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis. Analysis of bronchoalveolar and blood lymphocytes. *Am Rev Respir Dis.* 1985;131:337-342.
27. Cotes JE, Chinn DJ, Quanjer PH, Roca J, Yernault JC. Standardization of the measurement of transfer factor (diffusing capacity). Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J.* 1993;6(Suppl. 16):41-52.

28. Craig TJ, Hershey J, Engler RJ, Davis W, Carpenter GB, Salata K. Bird antigen persistence in the home after removal of the bird. *Ann Allergy*. 1992;69:510-512.
29. The Criteria Committee of the New York Heart Association. *Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*. 9th ed. Boston: Little, Brown; 1994:253-256.
30. Cruz MJ, Morell F, Roger A, Muñoz X, Rodrigo MJ. Hypersensitivity pneumonitis in construction plasterers (espartosis): study of 20 patients. *Med Clin (Barc)*. 2003;120:78-83.
31. Curtis L, Lee BS, Cai D, Morozava I, Fan JL, Scheff P, Persky V, Einoder C, Diblee S. Pigeon allergens in indoor environments: a preliminary study. *Allergy*. 2002;57:627-631.
32. De Gracia J, Morell F, Bofill JM, Curull V, Orriols R. Time of exposure as a prognostic factor in avian hypersensitivity pneumonitis. *Respir Med*. 1989;83:139-143.
33. Deneeds M, Wells AU, Anto JM, Costabel U, Hubbard R, Cullinan P, Slabbynk H, Rizzato G, Poletti V, Verbeke EK, Thomeer MJ, Kokkarinen J, Dalphin JC, Newman Taylor A. Interstitial lung diseases: an epidemiological overview. *Eur Respir J*. 2001;18(Suppl. 32):2s-16s.
34. Descombes E, Gardiol D, Leuenberger P. Transbronchial lung biopsy: an analysis of 530 cases with reference to the number of samples. *Mondial Arch Chest Dis*. 1997;52:324-329.
35. Documento técnico. Enquesta de salut de Catalunya (ESCA). Barcelona: Servei Català de la Salut, Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya; 2003.
36. Deont M, Van Velzen-Blad H, Diamant M, Wagenaar SS, Hoogsteden HC, Van den Bosch JM. Bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis: effect of time elapsed since antigen exposure. *Eur Respir J*. 1993;6:1276-1281.
37. Erkinjuntti-Pekkanen R, Rytönen H, Kokkarinen JI, Tukiainen HC, Partanen K, Terho EO. Long-term risk of emphysema in patients with farmer's lung matched control farmers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158:662-665.
38. Fink JN. Hypersensitivity pneumonitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1973;52:309-317.
39. Forster RE, Fowler WS, Bates DV, Van Lingen B. The absorption of carbon monoxide by the lungs during breathholding. *J Clin Invest*. 1954;33:1135-1145.
40. Glazer CS, Rose CS, Lynch DA. Clinical and radiologic manifestations of hypersensitivity pneumonitis. *J Thorac Imaging*. 2002;17:261-272.
41. Goudswaard J, Noordeij A, Stam JWE. Pigeon IgA. A major antigen in pigeon breeders disease. *Immunol Comm*. 1978;7:661-668.
42. Grudny J, Wiatr E, Langfort R, Rudzinski P, Orlowski T, Wesolowski S, Bestry I, Roszkowski-Slitz K. Hypersensitivity pneumonitis recognized by open lung biopsy in patients at the Institute of Tuberculosis and Lung Diseases. *Pneumonol Alergol Pol*. 2004;72:78-84.
43. Hansell DM, Wells AU, Padley SP, Muller NL. Hypersensitivity pneumonitis: correlation of individual CT patterns with functional abnormalities. *Radiology*. 1996;199:123-128.
44. Hargreave FE, Peppys J, Longbottom JL, Wraith DG. Bird breeder's (fancier's) lung. *Lancet*. 1966;1:445-449.
45. Hartman TE. The HRCT features of extrinsic allergic alveolitis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2003;24:419-426.
46. Hendrick DJ, Faux JA, Marshall R. Budgerigar-fancier's lung: the commonest variety of allergic alveolitis in Britain. *Br Med J*. 1978;2:81-84.
47. Hendrick DJ, Marshall R, Faux JA, Krall JM. Positive 'alveolar' responses to antigen inhalation provocation test: their validity and recognition. *Thorax*. 1980;35:415-427.
48. Hisauchi-Kojima K, Sumi Y, Miyashita Y, Miyake S, Toyoda H, Kurup VP, Yoshizawa Y. Purification of the antigenic components of pigeon dropping extract, the responsible agent for cellular immunity in pigeon breeder's disease. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103:1158-1165.
49. Hudspeth BN, Flint KC, James DG, Brostoff J, Johnson NM. Lack of immune deficiency in sarcoidosis: compartmentalization of the immune response. *Thorax*. 1987;42:250-255.
50. Inase N, Ohtani Y, Sumi Y, Umino T, Usui Y, Miyake S, Yoshizawa Y. A clinical study of hypersensitivity pneumonitis presumably caused by feather dusts. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;96:98-104.
51. Jacobs RL, Andrews CP, Coulson J. Organic antigen-induced interstitial lung disease: diagnosis and management. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002;88:30-41.
52. Jacobs RL. Hypersensitivity pneumonia: UIP/IPF histopathologic presentation. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110:532-533.
53. Judson MA, Sahn SA. Bird-years as well as pack-years. *Chest*. 2004;125:353-354.
54. Klech H, Pohl W. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL). Report of the European Society of Pneumology Task Group. *Eur Respir J*. 1989;2:561-585.
55. Lacasse Y, Fraser RS, Fournier M, Cormier Y. Diagnostic accuracy of transbronchial biopsy in acute farmer's lung disease. *Chest*. 1997;112:1459-1465.
56. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, Dalphin JC, Ando M, Morell F, Erkinjuntti-Pekkanen R, Muller N, Colby TV, Schuyler M, Cormier Y, HP Study Group. Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:952-958.
57. Longbottom JL. Pigeon breeder's disease: quantitative immunoelectrophoretic studies of pigeon bloom antigen. *Clin Exp Allergy*. 1989;19:619-624.
58. Lynch DA, Newell JD, Logan PM, King TE Jr, Muller NL. Can CT distinguish hypersensitivity pneumonitis from idiopathic pulmonary fibrosis? *Am J Roentgenol*. 1995;165:807-811.
59. Manusiewicz SP, Williamson JI, Sime PJ, Brown PH, Wenham PR, Crompton GK, Greening AP. Plasma lactate dehydrogenase: a marker of disease activity in cryptogenic fibrosing alveolitis and extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J*. 1993;6:1282-1286.
60. McCormick JR, Thrall RS, Ward PA, Moore VL, Fink JN. Serum angiotensin-converting enzyme levels in patients with pigeon-breeder's disease. *Chest*. 1981;80:431-433.
61. McSharry C, Anderson K, Boyd G. A review of antigen diversity causing lung disease among pigeon breeders. *Clin Exp Allergy*. 2000;30:1221-1229.
62. McSharry C, Banham SW, Lynch PP, Boyd G. Skin testing and extrinsic allergic alveolitis. *Clin Exp Immunol*. 1983;54:282-288.
63. McSharry C, Dye GM, Ismail T, Anderson K, Spiers EM, Boyd G. Quantifying serum antibody in bird fancier's hypersensitivity pneumonitis. *BMC Pulm Med*. 2006;6:16.
64. Metzger WJ, Butler JE, Swanson P, Reinders E, Richerson HB. Amplification of the enzyme-linked immunosorbent assay for measuring allergen-specific IgE and IgG antibody. *Clin Allergy*. 1981;11: 523-531.
65. Moraes A, Winck JC, Delgado L, Palmares NC, Fonseca J, Moura e Sa J, Marques JA. Suberosis and bird fancier's disease: a comparative study of radiological, functional and bronchoalveolar lavage profiles. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004;14:26-33.
66. Morell F, Curull V, Orriols R, De Gracia J. Skin tests in bird breeder's disease. *Thorax*. 1986;41:538-541.
67. Morell F, Jeanneret A, Aiache JM, Molina C. Leukocyte migration inhibition test in farmer's lung. *J Allergy Clin Immunol*. 1982;69: 405-409.
68. Morell F, Orriols R, Molina C. Usefulness of skin test in farmer's lung. *Chest*. 1985;87:202-205.
69. Morell F, Orriols R, Anto J, Roig J, Sanjuas C, Morera J. El test de inhibición de la migración de los leucocitos en el pulmón del cuidador de aves. *Allergol Immunopathol*. 1980;Supplementum VII:115-117.
70. Morell F, Orriols R, Anto JM, Bernado L, Bofill JM. El pulmón del cuidador de aves. Estudio clínico de 25 casos. *Arch Bronconeumol*. 1987;21:109-117.
71. Morell F, Orriols R, Jeanneret A, Aiache JM, Molina C. Hypersensibilite immediate et alveolitis allergiques extrinsecques. *Rev Fr Allergol*. 1982;2:91-95.
72. Morell F, Reyes L, Domenech G, De Gracia J, Majo J, Ferrer J. Diagnosis and procedures in 500 consecutive patients with clinical suspicion of interstitial lung disease. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:185-191.
73. Morell F, Roger A, Cruz MJ, Muñoz X, Rodrigo MJ. Suberosis: Clinical study and new etiologic agents in a series of eight patients. *Chest*. 2003;124:1145-1152.
74. Morell F, Sampol G, Orriols R, Ferrer J, Ruiz I. Hypersensitivity pneumonitis, an occupational bronchial syndrome. 4th Congress: Bronchitis and Emphysema. European Society of Pneumology. Milano, Italy. 1985. G Ital Mal Torace. A 112.

75. Morell F, Levy G, Orriols R, Ferrer J, De Gracia J, Sampol G. Delayed cutaneous hypersensitivity tests and lymphopenia as activity markers in sarcoidosis. *Chest*. 2002;121:1239-1244.
76. Morell F. Alveolitis alérgica extrínseca. In: *Pneumología. Pautas, Datos y Técnicas en Medicina Respiratoria*. 8th ed. Barcelona: Editorial Elsevier Masson; 2008.
77. Morris JF, Koski A, Johnson LC. Spirometric standards for healthy nonsmoking adults. *Am Rev Respir Dis*. 1971;103:57-67.
78. Naidich DP, Webb WR, Muller NL, Krinski GA, Zerhouni EA, Siegelman SS. *Computed tomography and magnetic resonance of the thorax*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999:433.
79. Navarro C, Mejia M, Gaxiola M, Mendoza F, Carrillo G, Selman M. Hypersensitivity pneumonitis: a broader perspective. *Treat Respir Med*. 2006;5:167-179.
80. Newman-Taylor A. Extrinsic allergic alveolitis. In: Brewis RAL, Gibson GJ, Geddes DM, eds. *Respiratory Medicine*. London: Bailliere Tindall; 1990:1104.
81. Ohtani Y, Kojima K, Sumi Y, Sawada M, Inase N, Miyake S, Yoshizawa Y. Inhalation provocation tests in chronic bird fancier's lung. *Chest*. 2000;118:1382-1389.
82. Ohtani Y, Saiki S, Kitaichi M, Usui Y, Inase N, Costabel U, Yoshizawa Y. Chronic bird fancier's lung: histopathological and clinical correlation. An application of the 2002 ATS/ERS consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Thorax*. 2005; 60:665-671.
83. Ohtani Y, Saiki S, Sumi Y, Inase N, Miyake S, Costabel U, Yoshizawa Y. Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003;90:579-580.
84. Orriols R, Morell F, Curull V, Roman A, Sampol G. Impaired non-specific delayed cutaneous hypersensitivity in bird fancier's lung. *Thorax*. 1989;44:132-135.
85. Orriols R, Morell F, Fite E, Ruiz J, Tornos C, Sanz R, Morera J. Reactividad cutánea retardada en una población de 400 pacientes hospitalizados. *Estudio control*. *Med Clin (Barc)*. 1981;77:240-242. [English abstract].
86. Pardell H, Salto E, Tresserras R, Junca S, Fernandez E, Vicente R, Segura A, Rius E, Salleras LL. La evolución del hábito tabaquico en Cataluña: 1982-1994. *Med Clin (Barc)*. 1997;109:125-129.
87. Pardo A, Barrios R, Gaxiola M, Segura-Valdez L, Carrillo G, Estrada A, Selman M. Increase of lung neutrophils in hypersensitivity pneumonitis associated with lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1698-1704.
88. Parish WE. Short-term anaphylactic IgG antibodies in human sera. *Lancet*. 1970;1:591-593.
89. Patel AM, Ryu JH, Reed CE. Hypersensitivity pneumonitis: current concepts and future questions. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108: 661-670.
90. Pelikan Z, Pelikan-Filipek M. A new disease: a nasal form of pigeon breeder's disease. *Allergy*. 1983;38:309-318.
91. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Van der Grinten CP, Gustafsson P, Hankinson J, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Miller MR, Navajas D, Pedersen OF, Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005;26:948-968.
92. Pepys J. Skin test in diagnosis. In: Gell PGH, Coombs RRA, Lachmann PJ, eds. *Clinical Aspects of Immunology*. Oxford, UK: Blackwell; 1975:52.
93. Perez-Padilla R, Gaxiola M, Salas J, Mejia M, Ramos C, Selman M. Bronchiolitis in chronic pigeon breeder's disease. Morphologic evidence of a spectrum of small airway lesions in hypersensitivity pneumonitis induced by avian antigens. *Chest*. 1996;110:371-377.
94. Pimentel JC, Avila R. Respiratory diseases in cork workers ("suberosis"). *Thorax*. 1973;28:409-423.
95. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J*. 1993;6(Suppl. 16):4-40.
96. Ramirez-Venegas A, Sansores RH, Perez-Padilla R, Carrillo G, Selman M. Utility of a provocation test for diagnosis of chronic pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158:862-869.
97. Rask-Andersen A. Allergic alveolitis in Swedish farmers. *Upps J Med Sci*. 1989;94:271-285.
98. Reed C, Barbee A. Pigeon breeders' lung: a newly observed interstitial pulmonary disease. *JAMA*. 1965;193:261-265.
99. Remy-Jardin M, Remy J, Wallaert B, Muller NL. Subacute and chronic bird breeder hypersensitivity pneumonitis: sequential evaluation with CT and correlation with lung function tests and bronchoalveolar lavage. *Radiology*. 1993;189:111-118.
100. Reyes L, Morell F, Xaubert A, Ramirez J, Majo J. Nonspecific interstitial pneumonia: epidemiological and clinical characteristics. *Med Clin (Barc)*. 2006; 126:47-52.
101. Reynolds SP, Jones KP, Edwards JW, Davies BH. Immunoregulatory proteins in bronchoalveolar lavage fluid. A comparative analysis of pigeon breeder's disease, sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis*. 1989;6:125-134.
102. Richerson HB, Bernstein IL, Fink JN, Humminghake GW, Novoy HS, Reed CE, Salvaggio JE, Schuyler MR, Schwartz HJ, Stechschulte DJ. Guidelines for the clinical evaluation of hypersensitivity pneumonitis. Report of the Subcommittee on Hypersensitivity Pneumonitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1989;84:839-844.
103. Roca J, Sanchis J, Agusti-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Rolsin R, Casan P, Sans S. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir*. 1986;22: 217-224.
104. Rodrigo MJ, Benavent MI, Cruz MJ, Rosell M, Murio C, Pascual C, Morell F. Detection of specific antibodies to pigeon serum and bloom antigens by enzyme linked immunosorbent assay in pigeon breeder's disease. *Occup Environ Med*. 2000;57:159-164.
105. Rodríguez de Castro F, Carrillo T, Castillo R, Blanco C, Diaz F, Cuevas M. Relationships between characteristics of exposure to pigeon antigens. *Chest*. 1983;103:1059-1063.
106. Sansores R, Perez-Padilla R, Pare PD, Selman M. Analysis of the lung pressure-volume curve in patients with chronic pigeon-breeder's lung. *Chest*. 1992;101:1352-1356.
107. Sansores R, Salas J, Chapela R, Barquin N, Selman M. Clubbing in hypersensitivity pneumonitis. Its prevalence and possible prognostic role. *Arch Intern Med*. 1990;150:1849-1851.
108. Schaaf BM, Seitzer U, Pravica V, Aries SP, Zabel P. Tumor necrosis factor-alpha-308 promoter gene polymorphism and increased tumor necrosis factor serum bioactivity in farmer's lung patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:379-382.
109. Schmidt CD, Jensen RL, Christensen LT, Crapo RO, Davis JJ. Longitudinal pulmonary function changes in pigeon breeders. *Chest*. 1988;93:359-363.
110. Schuyler M, Cormier Y. The diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Chest*. 1997;111:534-536.
111. Schuyler M. Hypersensitivity pneumonitis. In: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM, eds. *Pulmonary Diseases and Disorders*, Vol 1. New York: McGraw-Hill; 1997: 1090.
112. Selman M, Vargas MH. Airway involvement in hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med*. 1998;4:9-15.
113. Selman-Lama M, Perez-Padilla R. Airflow obstruction and airway lesions in hypersensitivity pneumonitis. *Clin Chest Med*. 1993;14: 699-714.
114. Semenzato G, Biermer L, Costabel U, Haslam PL, Olivieri D. Extrinsic allergic alveolitis (BAL). *Eur Respir J*. 1990;3:945-946.
115. Sharma OP, Fujimura N. Hypersensitivity pneumonitis: a noninfectious granulomatosis. *Semin Respir Infect*. 1995;10:96-106.
116. Small JH, Flower CDR, Trail ZC, Gleason FV. Air-trapping in extrinsic allergic alveolitis on computed tomography. *Clin Radiology*. 1996;51:684-688.
117. Tasaka S, Kanazawa M, Kawai C, Soejima K, Yamaguchi K, Takata A, Torikata C, Hata J. Fatal diffuse alveolar damage from bird fancier's lung. *Respiration*. 1997;64:307-309.
118. Thomeer MJ, Costabel U, Rizzato G, Poletti V, Demedts M. Comparison of registries of interstitial lung diseases in three European countries. *Eur Respir J Suppl*. 2001;32:114s-118s.
119. Tornos MP, Guardia J, Fuentes F, Gallart MT, Roca A, Morera J, Morell F, Vidal R, Richard C. Pulmón del cuidador de aves. *Med Clin*. 1976;67:4-9.

120. Travis WD, King Jr TE. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:277-304.
121. Van Toornenbergen AW, Gerth van Wijk R, Van Dooremalen G, Dieges PH. Immunoglobulin E antibodies against budgerigar and canary feathers. *Int Arch Allergy Immunol*. 1985;77:433-437.
122. Venkatesh P, Wild L. Hypersensitivity pneumonitis in children: clinical features, diagnosis and treatment. *Paediatr Drugs*. 2005;7:235-244.
123. Villar TG, Avila RG. Los criadores de aves en granulomatosis pulmonares de causa inhalatoria. Lisboa, Portugal: Grafica Bras Monteiro; 1973:99-144.
124. Vourlekis JS, Schwarz MI, Cherniack RM, Curran-Everett D, Cool CD, Tuder RM, King TE, Brown KK. The effect of pulmonary fibrosis on survival in patients with hypersensitivity pneumonitis. *Am J Med*. 2004;116:662-668.
125. Vourlekis JS, Schwarz MI, Cool CD. Nonspecific interstitial pneumonitis as the sole histologic expression of hypersensitivity pneumonitis. *Am J Med*. 2002;112:490-493.
126. Warren CPW. Extrinsic allergic alveolitis. A disease commoner in non-smokers. *Thorax*. 1977;32:567-568.
127. West JB. *Fisiopatología Pulmonar*. 6th ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 2004:149-162.
128. Xaubet A, Ancochea J, Morell F, Rodriguez-Arias JM, Villena V, Blanquer R, Montero C, Sueiro A, Disdier C, Vendrell M; Spanish Group on Interstitial Lung Diseases, SEPAR. Report on the incidence of interstitial lung diseases in Spain. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2004;21:64-70.
129. Yoshizawa Y, Miyashita Y, Inoue T, Sumi Y, Miyazaki Y, Sato T, Ohtsuka M. Sequential evaluation of clinical and immunological findings in hypersensitivity pneumonitis: serial subclass distribution of antibodies. *Clin Immunol Immunopathol*. 1994;73:330-337.
130. Yoshizawa Y, Ohtani Y, Hayakawa H, Sato A, Saga M, Ando M. Chronic hypersensitivity pneumonitis in Japan: a nationwide epidemiologic survey. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103:315-320.
131. Zacharisen MC, Schlueter DP, Kurup VP, Fink JN. The long-term outcome in acute, subacute and chronic forms of pigeon breeder's disease hypersensitivity pneumonitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002;88:175-182.
132. Zompatori M, Calabro E, Chetta A, Chiari G, Marangio E, Olivieri D. Chronic hypersensitivity pneumonitis or idiopathic pulmonary fibrosis? Diagnostic role of high resolution computed tomography (HRCT). *Radiol Med (Torino)*. 2003;106:135-146.

ANEXO

NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD EN LOS YESEROS DE LA CONSTRUCCIÓN (ESPARTOSIS): ESTUDIO DE 20 CASOS.

Cruz MJ, Morell F, Roger À, Muñoz X, Rodrigo MJ.

Med Clin (Barc) 2003; 120 (15): 578-83

FUNDAMENTO Y OBJETIVO: La espartosis es un tipo de neumonitis por hipersensibilidad que afecta, con cierta frecuencia, a los trabajadores de la construcción que manejan fibras de esparto como material de soporte de las placas de yeso. Aún se discute cuál es el agente concreto que causa la enfermedad. Los objetivos del estudio fueron: a) demostrar el posible papel etiológico de los hongos que colonizan las fibras de esparto y el del propio esparto en la etiología de esta enfermedad, y b) describir las características clínicas de esta enfermedad en una serie amplia de pacientes.

PACIENTES Y MÉTODO: Se estudió a 20 pacientes diagnosticados de neumonitis por hipersensibilidad causada por la exposición a esparto. Se realizaron cultivos micológicos de las muestras de esparto proporcionadas por cada paciente. Para determinar los anticuerpos IgG específicos y para realizar pruebas cutáneas específicas y pruebas específicas de provocación bronquial, se utilizaron extractos antigénicos de los hongos obtenidos en el cultivo y/o el propio esparto no contaminado.

RESULTADOS: Los hongos aislados con mayor frecuencia en las muestras de esparto causal fueron *Aspergillus* sp. (60%) y *Mucor* sp. (47%). La determinación de los anticuerpos IgG específicos y las pruebas específicas de provocación bronquial demostraron antigenicidad no sólo para *Aspergillus* sp., sino también para el esparto no contaminado por hongos y para otros hongos como *Penicillium* sp. o *Mucor* sp. Estos resultados fueron útiles para establecer una nueva aproximación diagnóstica a esta enfermedad.

CONCLUSIONES: *Aspergillus fumigatus* es conocido como un agente causal de la neumonitis por hipersensibilidad producida por exposición a esparto. Sin embargo, otras fuentes antigénicas, como *Penicillium frequentans* y otros hongos, así como las propias fibras de esparto, parecen tener un papel en la génesis de esta enfermedad.

Palabras clave: Neumonitis por hipersensibilidad. Espartosis. Esparto.

Hypersensitivity pneumonitis in construction plasterers (espartosis): study of 20 patients

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Espartosis is a type of hypersensitivity pneumonitis which frequently affects construction workers handling esparto fibres used as support material inside gypsum plaster. Exactly which agents produce this disease remains under discussion. The aims of this study were: a) to assess the possible etiologic role of the fungi colonizing esparto grass fibres and esparto itself in the genesis of this disease, and b) to describe the clinical characteristics of this disease in a large series of patients.

PATIENTS AND METHOD: Twenty patients diagnosed of hypersensitivity pneumonitis due to esparto grass exposure were studied. Mycologic cultures of the esparto grass fibre samples provided by each patient were performed. Fungi and/or esparto were used for determination of specific IgG antibodies, specific skin tests and specific bronchial challenge tests.

RESULTS: Most frequently isolated fungi in causal esparto samples were *Aspergillus* sp. (60%) and *Mucor* sp. (47%). Specific IgG antibody determinations and/or specific bronchial challenge tests showed antigenicity not only for *Aspergillus* sp. but also for non-fungi-contaminated esparto grass and other fungi such as *Penicillium* sp. or *Mucor* sp. These results were helpful for establishing a new etiologic approach to the diagnosis of this disease.

CONCLUSIONS: *Aspergillus fumigatus* is recognized as a causal agent in hypersensitivity pneumonitis due to esparto grass exposure; however, other antigenic sources such as *Penicillium frequentans* and other fungi, as well as esparto grass fibres, also appear to play a role in the genesis of this disease.

Key words: Hypersensitivity pneumonitis. Espartosis. Esparto grass.

Correspondencia: Dr. F. Morell.
Servici de Pneumologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron,
Pg. Vall d'Hebron, 119, 08035 Barcelona, España.
Correo electrónico: fmorell@hg.vhebron.es

Recibido el 12-9-2002; aceptado para su publicación el 17-12-2002.

La neumonitis por hipersensibilidad es una entidad clínica que cursa con afectación pulmonar, resultante de la sensibilización de individuos susceptibles a los antígenos presentes en una gran variedad de materiales orgánicos¹. El esparto es una planta gramínea silvestre que, después de un proceso de transformación, se utiliza para la manufactura de diversos productos, entre ellos alfombras, alpargatas, cestas, sacos o cuerdas. También sirve como material de soporte en el interior de las placas de yeso que se utilizan en la construcción para recubrir paredes y techos. Desde hace tiempo se conoce que la manipulación de fibras de esparto puede inducir distintas afecciones respiratorias como asma bronquial, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y fibrosis pulmonar².

El esparto se reconoció como una nueva causa de neumonitis por hipersensibilidad³ en 1984 y desde entonces se han publicado diversos casos clínicos⁴⁻⁷ y series cortas de pacientes^{8,9}. Quirce et al⁸ realizaron una primera aproximación a la etiología de esta entidad clínica, atribuyendo el papel causal de la enfermedad a *Aspergillus fumigatus*.

Si se considera el número de casos comunicados hasta la fecha en la población de yeseros españoles, esta forma de neumonitis por hipersensibilidad podría ser más frecuente de lo que hasta ahora se sospechaba. Se trata además de un cuadro potencialmente grave, que en la mayoría de los casos incluye hipoxemia y conduce con frecuencia a la insuficiencia respiratoria⁸. Por todo ello resulta de gran interés el estudio en profundidad de la etiología de la enfermedad, que podría llevar a un mejor conocimiento del/los agente/s causal/es y con ello a la adopción de las medidas preventivas necesarias.

El presente trabajo describe las características clínicas y epidemiológicas de la serie de pacientes más amplia publicada hasta la fecha. Además, se realizó una identificación de los hongos que contaminaban las muestras de esparto y se determinaron en el suero de los pacientes los anticuerpos específicos contra las fibras

de esparto no contaminadas por hongos y contra diversos hongos. De igual modo se determinó la reactividad cutánea contra un extracto antigénico obtenido a partir de las muestras de esparto proporcionadas por cada paciente. Finalmente, se realizaron pruebas de provocación bronquial con dichas muestras de esparto y con distintos hongos.

Pacientes y método

Población de estudio

Se estudió consecutivamente a 20 pacientes que cumplían los criterios diagnósticos de neumonitis por hipersensibilidad¹⁸ (todos varones, edad media de 37 años, extremos entre 18 y 62 años). Tres pacientes fueron estudiados en nuestro hospital desde el inicio de sus síntomas y 17 fueron derivadas a él desde otros centros de España para completar su estudio; el protocolo diagnóstico utilizado en nuestro servicio ante la sospecha de neumonitis por hipersensibilidad fue seguido en todos los casos. En 5 de ellos se confirmó el diagnóstico con un resultado positivo en la prueba de provocación bronquial específica; en los 15 restantes se estableció el diagnóstico cuando se cumplían los criterios siguientes: sintomatología aguda relacionada con la exposición a esparto, radiografía de tórax y pruebas de función respiratoria (PFR) compatibles, mejoría clínica tras evitación antigénica y presencia de anticuerpos IgG específicos y de pruebas cutáneas específicas positivas; si sólo una de estas últimas dos pruebas era positiva se requería la presencia de resultados compatibles con neumonitis por hipersensibilidad en la tomografía computarizada (TC) torácica de alta resolución (TCAR), lavado broncoalveolar (LBA) y biopsia transbronquial (BTB). En el momento del diagnóstico todos los pacientes trabajaban activamente en la construcción como yeseros o albañiles. La exposición al esparto previa al diagnóstico fue de 13,6 años en promedio (intervalo: 0,4-40); la mitad de los pacientes habían estado expuestos menos de 5 años. Seis pacientes eran fumadores activos, 8 no fumadores y tres ex fumadores, no existiendo información sobre el hábito tabáquico de los tres pacientes restantes.

Se evaluaron los datos de la historia clínica, exploración física, hemograma, gasometría, radiografía de tórax, TCAR, PFR (espirometría y difusión de CO), fibrobroncoscopia con LBA y BTB. Se realizaron determinaciones de anticuerpos IgG específicos en suero (mediante enzimmunoenálisis) frente a distintos hongos y frente a antígenos de las fibras de esparto no contaminadas por hongos, así como pruebas cutáneas específicas frente a antígenos del esparto causal. Finalmente, en los casos en que fue posible, se realizaron pruebas de provocación bronquial con esos mismos antígenos. También se determinaron los anticuerpos IgG específicos contra antígenos fúngicos y contra estas fibras de esparto no contaminadas por hongos en 6 yeseros de la construcción asintomáticos (todos varones con una edad media de 45 años, extremos entre 26 y 58 años).

Dado que algunos de estos pacientes fueron posteriormente controlados en sus centros de referencia, fue también posible recoger datos de la evolución clínica de 13 de ellos y datos espirométricos de los 8 pacientes seguidos durante al menos un año.

Cultivos de las muestras de esparto causal

Con el objetivo de identificar los hongos contaminantes, se realizó un cultivo en medio de Sabouraud de cada una de las muestras de esparto provenientes del lugar de trabajo de los pacientes con cuyo contacto se habían desencadenado los síntomas.

Extractos antigénicos del esparto y de los hongos

Los extractos antigénicos se prepararon a partir de las fibras de esparto no contaminadas por hongos, cuyo cultivo de Sabouraud resultó negativo, y a partir del esparto que indujo los síntomas en cada paciente (esparto causal), utilizando el procedimiento descrito

anteriormente¹⁹. Se usaron extractos comercializados (Bial-Aristegui, Bilbao) para los óvintos hongos (*Penicillium frequentans*, *A. fumigatus* y *Mucor mucoides*). Todos estos extractos fueron los que se emplearon posteriormente para la realización de pruebas in vivo (pruebas cutáneas específicas y pruebas de provocación bronquial específicas) e in vitro (determinación de anticuerpos específicos).

Pruebas cutáneas específicas

Las pruebas cutáneas específicas se realizaron en el antebrazo del paciente mediante inyección intradérmica de 0,1 ml de una solución antigénica a 1/100 w/v del esparto causal. Se midió el diámetro máximo de la pápula a los 15 min (lectura inmediata) y se consideraron positivos los valores superiores a 10 mm^{11,12}.

Como grupo control se estudió a 12 individuos sanos ajenos a la industria de la construcción y sin exposición conocida a fibras de esparto, a los que se practicaron pruebas cutáneas frente a las fibras de esparto no contaminadas por hongos y frente a los hongos hallados con mayor frecuencia en las muestras de esparto.

Anticuerpos IgG específicos frente a las fibras de esparto no contaminadas por hongos, *P. frequentans*, *A. fumigatus* y *M. mucoides*

Los anticuerpos IgG específicos fueron determinados mediante un método de enzimmunoenálisis basado en el método descrito por Metzger et al¹³ modificado del siguiente modo: como antígenos se utilizaron los extractos de las fibras de esparto no contaminadas por hongos y los extractos comerciales de *P. frequentans*, *A. fumigatus* y *M. mucoides* (Bial-Aristegui, Bilbao). Los pocillos de las placas de alta afinidad (Costar, Cambridge, MA, EE.UU.) se incubaron con una concentración de 2 µg de proteína/pocillo en tampón Na₂CO₃/NaHCO₃, pH 9,6, durante 16 h a 4 °C. Tras dos lavados, se bloquearon las placas (PBS/1% BSA) durante 1 h a 37 °C. Después de nuevos lavados, los sueros se incubaron por duplicado a la dilución apropiada durante 1 h a 37 °C. Tras tres lavados, los pocillos se incubaron con anti-IgG humana marcada con peroxidasa de tabaco (con MH16-1ME, 0,5 µg/ml, SBA, Ala., EE.UU.) durante 1 h a 37 °C. La reacción se reveló con 3,3',5,5'-tetrametil-bencidina, 3% H₂O₂, durante 20 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Los resultados se expresaron en unidades de absorbancia a 450 nm. Se consideraron positivos los valores superiores a la media más dos desviaciones estándar de los obtenidos en una población de control de 30 individuos sanos previamente estudiados.

Anticuerpos específicos frente a esparto causal

Los anticuerpos precipitantes se determinaron mediante inmunolectroforesis (CIE): en los pocillos de una placa de agar se aplicaron 20 µl de una solución antigénica (concentración proteica: 100 mg/ml) y se enfritaron frente a 20 µl de suero sin diluir de cada paciente. Las placas de agar se sometieron a electroforesis en un tampón de barbital sódico pH 8,4, $\mu = 0,05$ y posteriormente fueron introducidas en una solución de citrato sódico al 5% durante 72 h. Tras un lavado con PBS, las placas se tñieron con Coomassie Brilliant Blue (Pierce Chemical Co., Rockford, Ill, USA) y se evaluaron las líneas de precipitación mediante visualización directa.

Pruebas funcionales respiratorias

Se dispone de los resultados de las espirometrías forzadas y pruebas de difusión de CO (DLCO) realizadas en 16 pacientes. Los resultados de las PFR realizadas al inicio del estudio a los 4 pacientes restantes no figuran en los informes disponibles en el momento de la revisión de resultados de la serie que nos fueron remitidos desde los distintos centros hospitalarios donde fueron inicialmente estudiados. Los equipos utilizados variaron en función del centro, aunque todos ellos cumplían los requisitos mínimos de la European Respiratory Society (ERS)^{14,15}. Para la espirometría se aplicaron los valores teóricos propuestos por Roca et al¹⁶. La DLCO se realizó por el método de respiración única¹⁷ y los valores teóricos usados fueron los propuestos por la ERS¹⁴.

Pruebas de provocación bronquial específica

Antes de la realización de la prueba se obtuvieron en cada paciente el recuento y la fórmula leucocitaria, radiografía de tórax, espirometría, DLCO y saturación de oxihemoglobina (SaO₂) mediante pulsioximetría. Utilizando un nebulizador De Vibris 646 (De Vibris Co. Somerset, PA, EE.UU.) y un dosímetro Metlar MB3 (Metlar, Eke H₂O, Medical, Brescia, Italia) que libera la solución durante el primer segundo de cada inspiración, se solicitó al paciente que inhalase 2 ml del antígeno sospechoso a una dilución de 1/100 (0,01 mg/ml)¹⁸. Antes de la prueba se registraron la capacidad vital forzada (FVC), el volumen espiratorio en el primer segundo (FEV₁), la DLCO y la temperatura del paciente, repitiéndose todas estas determinaciones a los 20 min de la inhalación y cada hora durante las siguientes 8 h. A las 8 h de la inhalación se obtuvieron además nuevas determinaciones del recuento y fórmula leucocitaria y de la SaO₂, así como una nueva radiografía de tórax. La prueba se consideró positiva cuando se produjo alguna de las siguientes respuestas:

- Descenso de la FVC mayor del 15% o de la DLCO mayor del 20% con respecto a los valores basales.
- Descenso de la FVC del 10-15% al que se añade uno o más de los criterios siguientes, siempre en relación a los valores basales: a) aumento del recuento leucocitario (total o superior al 20%); b) descenso de un 3% en la SaO₂; c) cambios radiológicos significativos; d) aumento de la temperatura corporal superior a 0,5 °C; e) síntomas clínicos evidentes (tos, disnea, cefaleas, entre otros).
- Descenso de la FVC inferior al 10% con evidencia de tres o más de los anteriores criterios clínicos y analíticos¹⁸.

En caso de negatividad se realizó una nueva prueba al día siguiente con una dilución antigénica de 1/10 (0,1 mg/ml) siguiendo el mismo procedimiento.

Resultados

Datos clínicos y resultados de las pruebas complementarias

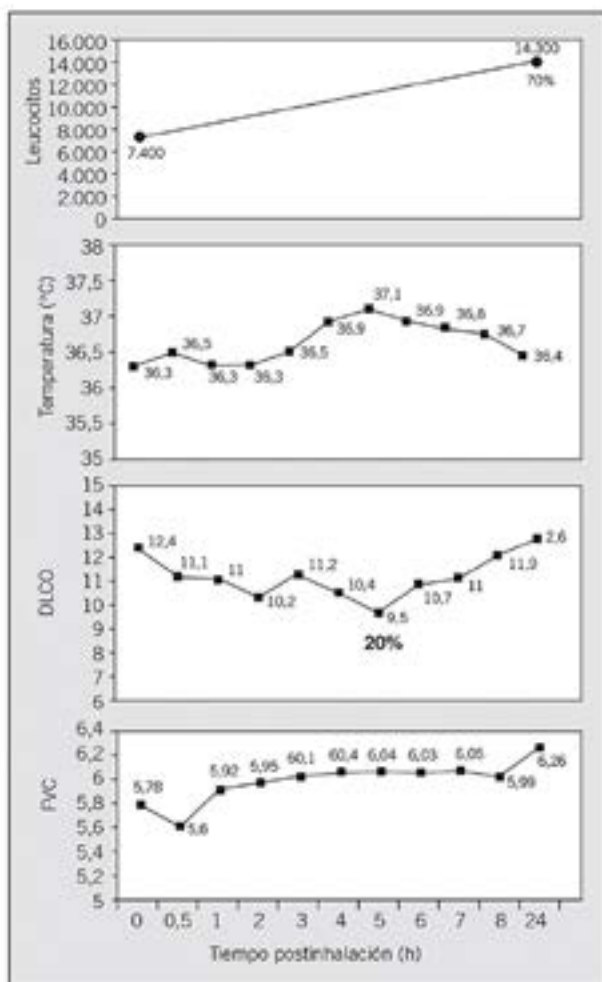
Los datos clínicos y los resultados de las pruebas complementarias se describen en la tabla 1. En el momento del diagnóstico los pacientes habían presentado síntomas durante un promedio de 1,15 años (intervalo: 0,1-8), aunque la mayoría (76,4%) habían sido diagnosticados dentro del primer año de sintomatología. A pesar de ello, casi un tercio (30%) requirió dos o más ingresos antes del diagnóstico definitivo. De forma característica, los síntomas se iniciaron hacia la mitad de la jornada laboral en 6 pacientes (30%) o hacia el final de la tarde en otros 10 (50%). En 6 pacientes (30%) los síntomas remitieron o mejoraron durante el fin de semana o las vacaciones. La evolución clínica tras la evicción antigénica fue muy favorable, de forma que 12 de los 13 pacientes en los que se realizó seguimiento estaban completamente asintomáticos en la última visita de control. El paciente que se mantenía sintomático (clase funcional II) había sido diagnosticado con 6 meses de retraso, pero su cuadro clínico en el momento del diagnóstico era uno de los más graves entre los pacientes de esta serie, comparado incluso con el de otros pacientes cuyo retraso diagnóstico era mayor. De hecho, se trataba de un yesero que ya había requerido dos ingresos hospitalarios.

TABLA 1

Datos clínicos de los 20 pacientes con espartosis

Edad media (extremos), años	37 (18-62)
Fumadores	6/17 (35,3%)
Trabajo	Yeseros (16), albañiles (4)
Retraso diagnóstico, media (extremos), años	1,15 (0,1-8)
Síntomas	
Disnea	18 (90%)
Fiebre	17 (85%)
Tos	14 (70%); expectoración en 3/14
Astenia	9 (45%)
Tirantez torácica	6 (30%)
Artromialgias	5 (25%)
Escalofríos	5 (25%)
Sudoración	4 (20%)
Pérdida de peso	3 (15%)
Síntomas en el trabajo	6 (30%)
Síntomas tras el trabajo (4-8 h)*	10 (50%)
Ingresos/urgencias pre-diagnóstico (n.º de pacientes)	17 (85%)
Crepitantes	8/15 (53,3%)
Datos analíticos en el ingreso 10ªNI	
Promedio de leucocitos (n = 15) (extremos)	13.321 (4.400-32.400)
Promedio de % linfocitos (n = 11) (extremos)	18 (3-37)
pO ₂ media (n = 17), mmHg (extremos)	61 (44-98)
Pruebas funcionales respiratorias (n = 16)	FVC (80%): 7 (43,7%), DLCO (80%): 10 (62,5%)
Patrón radiológico (n = 18)	normal: 2 (11,1%); intersticial: 8 (44,4%); alveolar: 2 (11,1%); mixto: 6 (33,3%)

*Otros 6 pacientes no refirieron espontáneamente ninguna relación causal de sus síntomas. FVC: capacidad vital forzada; DLCO: difusión de monóxido de carbono.



rios previos al diagnóstico, en los cuales se había objetivado una situación de hipoxemia grave con pO₂ de 49 mmHg.

La radiografía de tórax, obtenida en todos los casos excepto en dos, puso de manifiesto un patrón intersticial como hallazgo más frecuente en este tipo de neumonitis por hipersensibilidad (tabla 1); los hallazgos radiológicos fueron normalmente difusos, aunque de localización más frecuente en los lóbulos inferiores. En 14 pacientes se dispuso de TCAR, que evidenciaba un patrón localizado en vidrio deslustrado en 5 (35,7%), patrón micronodular en 4 (28,6%), atrapamiento aéreo parcheado en tres (21,4%), engrosamiento septal en otros tres (21,4%) y patrón intersticial no especificado en dos casos (10%).

El LBA y la BTB se obtuvieron en 8 y 9 pacientes, respectivamente. Se halló linfocitosis superior al 20% en el LBA en 6/8 pacientes (75%). El hallazgo más frecuente en la BTB fue una alveolitis linfocitaria en 7/9 pacientes (77,7%); en tres pacientes (33,3%) se observaron granulomas y presencia de macrófagos/histiocitos espumosos.

Se practicaron PFR en 16 pacientes. En tres de ellos (18,7%) no se detectó deterioro funcional. De los restantes 13 pacientes, en 7 (43,7%) se observó una FVC menor al 80% (intervalo: 56-78%) del valor teórico (con un FEV1% superior al 75) y en 10 (62,5%) una disminución de la DLCO (intervalo: 35-78%); la presencia concomitante de ambas alteraciones se detectó en 4 pacientes (25%). En aquellos pacientes que pudieron controlarse durante más de un año, la espirometría se normalizó en 7/8 (87,5%) después de la evicción antigénica.

A 17 pacientes se les realizó se gasometría arterial durante la fase aguda; 7 de ellos (41,2%) cumplían criterios de insuficiencia respiratoria aguda y 8 (47%) estaban cercanos a ella (pO₂ entre 60-70 mmHg).

Cultivos de las muestras de esparto causal

Los hongos que se aislaron con mayor frecuencia fueron *Aspergillus* sp. (60%) y *Mucor* sp. (47%). En una (7%) de las muestras no se halló contaminación fúngica. Además, otros hongos (*Penicillium* sp., *Trichosporium* sp., *Blastoschyonium* sp., *Sepedonium* sp. y *Geotrichum* sp.) se identificaron en algunas muestras; 5/15 (33%) de las muestras estaban contaminadas por más de un hongo.

Debido al hecho de que los diferentes lotes de esparto con los que los pacientes trabajan pueden estar contaminados por distintos hongos, el aislamiento de una determinada especie en una única muestra proporcionada por el paciente no necesariamente muestra la verdadera expo-

sición a la que está sometido. A pesar de esta circunstancia, los resultados de estos cultivos considerados globalmente indican los hongos a los que con mayor frecuencia están expuestos estos trabajadores y, considerados individualmente, resultan útiles para establecer una mejor aproximación diagnóstica en pacientes con prueba de provocación bronquial positiva frente al extracto de esparto causal.

Pruebas cutáneas específicas

Las pruebas cutáneas específicas frente a esparto causal fueron positivas en 5/12 pacientes (42%). En el grupo control, el promedio del diámetro máximo de la respuesta fue de 5 mm (intervalo: 0-11), 1,4 mm (intervalo: 0-7), 2,6 mm (intervalo: 0-12) y 2,6 mm (intervalo: 0-11) frente a las fibras de esparto no contaminadas por hongos, *P. frequentans*, *A. fumigatus* y *M. mucedo*, respectivamente. Sólo en tres individuos sanos distintos se obtuvo un resultado positivo frente a esparto, *A. fumigatus* y *M. mucedo*.

Anticuerpos séricos específicos frente a las fibras de esparto no contaminadas por hongos, *A. fumigatus*, *P. frequentans*, *M. mucedo* y esparto causal

En la tabla 2 se recogen los valores de los anticuerpos IgG específicos obtenidos en los pacientes con espartosis. Los mayores porcentajes de positividad correspondieron a *P. frequentans* (60%) y *A. fumigatus* (50%), mientras que para *M. mucedo* fue de sólo un 17%. Tres pacientes (15%) presentaron valores de IgG específicos frente a las fibras de esparto no contaminadas por hongos superiores a los valores de referencia. Se halló la presencia de anticuerpos precipitantes frente a esparto causal en 6 de los 14 pacientes (43%) a los que se les realizó esta prueba.

Respecto a los 6 yeseros de la construcción asintomáticos, se obtuvo positividad en los anticuerpos específicos frente a *A. fumigatus* en 4 (67%) y frente a *P. frequentans* en tres (50%); no se detectaron valores positivos frente a *M. mucedo* ni frente a las fibras de esparto no contaminadas.

Pruebas de provocación bronquial específica

A 8 pacientes se les realizaron pruebas específicas de provocación bronquial (tabla 3) frente a distintos antígenos, en función de la sospecha clínica o de la disponibilidad de extractos en cada laboratorio. Se realizaron pruebas de provocación bronquial específica frente a extractos de *A. fumigatus* y *P. frequentans* en 4 pacientes; todas las pruebas (n = 4) frente

TABLA 2

Anticuerpos IgG específicos frente a los diferentes hongos y frente a las fibras de esparto no contaminadas por hongos

	Mediana	Intervalo	Positividad (%)
<i>Aspergillus fumigatus</i>			
A	0,484	0,219-0,700	67
S	0,419	0,065-1,250	50
<i>Penicillium frequentans</i>			
A	0,491	0,073-1,175	50
S	1,017	0,046-2,308	60
<i>Mucor mucedo</i>			
A	0,225	0,115-0,638	0
S	0,317	0,093-1,411	17
FENC			
A	0,419	0,109-0,178	0
S	0,223	0,120-0,501	15

A: yeseros asintomáticos; S: pacientes con síntomas; FENC: fibras de esparto no contaminadas. Valores positivos (cut-off) $A_{Aspergillus\ fumigatus} > 0,417$, $P_{Penicillium\ frequentans} > 0,687$, $M_{Mucor\ mucedo} > 0,735$, FENC $> 0,265$.

TABLA 3

Resultados de los cultivos del esparto causal y de las pruebas inmunológicas frente a los diferentes antígenos en los pacientes con prueba de provocación bronquial específica

	Anticuerpos específicos*	Cultivo esparto causal	PCE**	Prueba de provocación bronquial específica
Caso 1	<i>Aspergillus</i> : 0,845 (+) <i>Penicillium</i> : 0,309 (-) <i>Mucor</i> : 0,506 (-) FENC: 0,285 (-) Esparto causal: (-)	<i>Aspergillus</i> sp.	(-)	Esparto causal: (-)
Caso 2	<i>Aspergillus</i> : 0,090 (-) <i>Penicillium</i> : 1,100 (+) <i>Mucor</i> : NR FENC: NR Esparto causal: ND	NR	NR	<i>Penicillium</i> sp. (+) <i>Aspergillus</i> sp. (-) FENC: (-)
Caso 3	<i>Aspergillus</i> : 0,433 (+) <i>Penicillium</i> : 2,354 (+) <i>Mucor</i> : 1,411 (+) FENC: 0,207 (-) Esparto causal: (-)	<i>Mucor</i> sp.	(-)	Esparto causal: (+)
Caso 4	<i>Aspergillus</i> : 0,315 (-) <i>Penicillium</i> : 1,050 (+) <i>Mucor</i> : 0,192 (-) FENC: 0,501 (+) Esparto causal: ND	<i>Aspergillus</i> sp. <i>Mucor</i> sp. <i>Trichosporum</i> sp. <i>Blastoschizomyces</i> sp.	NR	<i>Aspergillus</i> sp. (-) <i>Penicillium</i> sp. (-)
Caso 5	<i>Aspergillus</i> : 0,180 (-) <i>Penicillium</i> : 2,030 (+) <i>Mucor</i> : 0,342 (-) FENC: 0,452 (+) Esparto causal: (+)	<i>Mucor</i> sp.	(-)	Esparto causal: (+)
Caso 6	<i>Aspergillus</i> : 0,379 (-) <i>Penicillium</i> : 0,439 (-) <i>Mucor</i> : 0,716 (-) FENC: 0,122 (-) Esparto causal: (+)	Negativo	NR	Esparto causal: (+)
Caso 7	<i>Aspergillus</i> : 0,234 (-) <i>Penicillium</i> : 0,519 (-) <i>Mucor</i> : 0,143 (-) FENC: 0,311 (-) Esparto causal: NR	<i>Aspergillus</i> sp.	(-)	<i>Aspergillus</i> sp. (-)
Caso 8	<i>Aspergillus</i> : 0,501 (+) <i>Penicillium</i> : 1,511 (+) <i>Mucor</i> : 0,283 (-) FENC: 0,197 (-) Esparto causal: NR	<i>Aspergillus</i> sp. <i>Mucor</i> sp.	NR	Esparto causal: (+) <i>Aspergillus</i> sp. (-) <i>Penicillium</i> sp. (-)

*Anticuerpos específicos: *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium frequentans*, *Mucor mucedo* y fibras de esparto no contaminadas (FENC) por ELISA (anticuerpos IgG específicos), esparto causal mediante contaimunoelectroforosis (anticuerpos precipitantes); NR: no realizado; **prueba cutánea específica frente al esparto causal.

a *A. fumigatus* resultaron negativas y una de las tres realizadas frente a *P. frequentans* fue positiva. Por otra parte, se obtuvo positividad frente a esparto causal en 4/5 pacientes (80%); en la figura 1 se presenta el resultado de la prueba de

provocación bronquial utilizando esparto causal en el caso 6. En un paciente (caso 2) la prueba fue positiva para *P. frequentans* y negativa para *A. fumigatus* y para las fibras de esparto no contaminadas por hongos.

Discusión

Los resultados del presente estudio demuestran que la espartosis, en su forma aguda, es usualmente una forma grave de neumonitis por hipersensibilidad y también que su diagnóstico en la práctica clínica resulta sencillo cuando la sospecha clínica es alta y se dispone de las pruebas complementarias requeridas. Por el contrario, a pesar de un estudio diagnóstico exhaustivo, en muchos casos resulta difícil atribuir la etiología de la enfermedad a un antígeno determinado.

Algunos autores afirman que *A. fumigatus* es el principal agente antigénico causal de esta enfermedad²⁹, basándose en sus resultados definitivamente concordantes entre los cultivos del esparto, los anticuerpos IgG específicos y las pruebas de provocación bronquial. En ese sentido, el hallazgo en el presente trabajo de un alto porcentaje de positividad en la determinación de anticuerpos específicos frente a *A. fumigatus* (50%), su elevada presencia en los cultivos de esparto causal (60%) y la positividad de una prueba de provocación bronquial frente a esparto contaminado por este hongo apuntan también hacia esta fuente antigénica como una de las causas etiológicas de la espartosis.

A pesar de ello, no debemos olvidar que al inicio del procesamiento del esparto se requiere una inmersión prolongada de las fibras en agua, lo que favorece su contaminación por parte de distintos hongos, tal como se ha demostrado en estudios anteriores⁸. En estos estudios se halló una amplia variedad de hongos que contaminaban el esparto utilizado por los pacientes (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Absidia* sp., etc.). Esto mismo ocurrió en los cultivos de esparto realizados en el presente estudio, ya que no sólo se aisló *Aspergillus* sp., sino también otros hongos como *Mucor* sp., *Penicillium* sp., entre otros, causantes por otro lado de otros tipos de neumonitis por hipersensibilidad. En concordancia, en algunos pacientes de la presente serie (tabla 2) y de otras series²⁹ se hallaron valores positivos de anticuerpos IgG específicos frente a algunos de estos hongos. Aunque es sabido que un valor positivo de los anticuerpos IgG específicos es útil como marcador de exposición, pero no resulta específico de la enfermedad, los resultados de la presente serie, y en concreto la positividad de las pruebas de provocación exclusivamente frente a *Penicillium* sp. en un paciente, refuerzan la opinión de otros autores²⁹ sobre la posibilidad de que la neumonitis por hipersensibilidad, en algunos pacientes, resulte de la reacción frente a distintos agentes ambientales, ninguno de los cuales sería el único causante de la enfermedad en todos los casos.

En la presente serie de 20 pacientes, la etiología parece atribuible a *Aspergillus* sp. en algunos casos en los que se halló exclusivamente un valor positivo de los anticuerpos IgG específicos frente a este hongo, además de su aislamiento en el cultivo del esparto causal. Sin embargo, en otros pacientes se obtuvieron pruebas de provocación bronquial positivas frente a extractos elaborados con su propio esparto causal en el que habían sido aislados otros hongos diferentes de *Aspergillus* sp.; además, en algunos de estos pacientes se obtuvieron valores negativos de los anticuerpos IgG específicos frente a *Aspergillus* sp. Por tanto, a la vista de estos resultados, nuevos agentes hasta ahora no descritos como causantes parecen tener un papel en la etiología de esta enfermedad. Ello incluye a *Penicillium* sp., *Mucor* sp. y a las mismas fibras de esparto no contaminadas, que han inducido en algunos pacientes respuesta de anticuerpos específicos. Hay que tener en cuenta que, en el caso de *Penicillium* sp., el alto porcentaje de positividad de los anticuerpos específicos hallado en nuestra serie pudiera atribuirse, en algunos casos, a las reacciones cruzadas entre este hongo y *Aspergillus* sp.^{21,22}, a pesar de ello, su papel etiológico en algunos casos de espartosis viene respaldado por la positividad de la prueba de provocación bronquial obtenida en un paciente frente a un extracto de este hongo. En definitiva, tal como otros autores han admitido²⁹, en la mayoría de los casos no es posible atribuir la etiología de la espartosis a una determinada sustancia antigénica y, en la práctica clínica, cuando las pruebas no son concordantes, resulta difícil distinguir el agente causal concreto, tal como hemos constatado en nuestro trabajo. Ello tiene importancia de cara a la aproximación diagnóstica, ya que la negatividad de las pruebas cutáneas o de los anticuerpos IgG específicos frente a *Aspergillus* sp. no descarta la enfermedad en un determinado paciente, debiéndose tener en cuenta una posible hipersensibilidad frente a otros antígenos fúngicos. Desde el punto de vista clínico, y considerando la frecuencia de los ingresos hospitalarios con hipoxemia grave no diagnosticada, se debe asumir que esta enfermedad es una forma de neumonitis por hipersensibilidad más agresiva que otras entidades²⁴. Los resultados de la función pulmonar obtenidos en estos pacientes evidencian una tendencia a la disminución de su FVC y un deterioro de la DLCO incluso en el momento del diagnóstico, hallazgos concordantes con la presencia de un patrón intersticial en la radiografía y la TC de tórax. La persistencia de exposición al antígeno, como se ve en nuestra serie, lleva a exacerbaciones frecuentes y episodios de insuficiencia

respiratoria aguda que requieren visitas de urgencia e ingresos hospitalarios. El diagnóstico temprano de la enfermedad se considera de vital importancia para implantar las medidas de evicción antigénica de manera temprana, ya que en otras formas de neumonitis por hipersensibilidad la persistencia de los síntomas ha demostrado ser un factor predictivo de empeoramiento funcional respiratorio y de mal pronóstico²⁵. Debido probablemente al diagnóstico temprano y a la introducción de estas medidas preventivas, se observaron en estos casos la desaparición de la clínica y la normalización de la función respiratoria.

También son destacables las bajas cifras de linfocitos observadas en la fase aguda de la enfermedad (tabla 1); valores similares se hallan en la fase activa de la sarcoidosis²⁶, otra enfermedad linfocítica y granulomatosa del pulmón. Este hecho podría deberse a una compartimentalización de la respuesta inmunitaria durante la inflamación aguda, con un incremento de leucocitos en el pulmón que conduce a una relativa depleción linfocitaria en la sangre periférica.

En conclusión, los resultados del presente estudio indican que, además de *A. fumigatus*, otras fuentes antigénicas como *P. frequentans* o las mismas fibras de esparto pueden tener un papel etiológico en el desarrollo de la espartosis. Además, los síntomas clínicos son graves en esta forma de neumonitis por hipersensibilidad; probablemente por ello el diagnóstico se realiza con prontitud y, en consecuencia, el pronóstico es más favorable.

Agradecimiento

Agradecemos a María Dolores Untoria (enfermera) su ayuda en los análisis de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fishman AP. Hypersensitivity pneumonitis. En: Fishman AP, editor. Fishman's pulmonary diseases and disorders (vol. 1). 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 1998; p. 1085-97.
2. Jiménez Díaz G, López García E, Lahoz F, Ramírez Gyredes, Ales JM. Asma y fibrosis (consideraciones sobre enfermos del cáñamo y del esparto). Rev Clin Esp 1966;3:182-8.
3. Hinojosa M, Macías M, Sánchez-Cano M, Martín F, Díez ML, Pérez E, et al. Neumonitis por hipersensibilidad en trabajadores expuestos al esparto (stipatosis). Med Clin (Barc) 1984;82:214-7.
4. Gamboa PM, De las Marinas MD, Antepara I, Jáuregui I, Sanz JML. Extrinsic allergic alveolitis caused by esparto (*Stipa tenacissima*). Allergol Immunopathol 1990;18:331-4.
5. Zamarrón C, Del Campo F, Paredes C. Extrinsic allergic alveolitis due to exposure to esparto dust. J Int Med 1992;232:177-9.
6. Quirce S, Hinojosa M, Blanco R, Crespón C, Yoldi M. *Aspergillus fumigatus* is the causative agent of hypersensitivity pneumonitis caused by esparto dust. J Allergy Clin Immunol 1998;102:147-8.

7. Miravet L, Parada A, Amal M, Cabadés F. Alveolitis alérgica extrínseca por esparto (espartosis). *Med Clin (Barc)* 2001;116:359.
8. Morell F, Gómez F, Uresandi F, González A, Suárez I, Rodrigo MJ. Espartosis. Un nuevo tipo de alveolitis alérgica extrínseca en los escajolistas de la construcción. *Med Clin (Barc)* 1999;105:19-23.
9. Hinojosa M, Fraj J, De la Hoz B, Alcázar R, Sueiro A. Hypersensitivity pneumonitis in workers exposed to esparto grass (*Stipa tenacissima*) fibers. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:985-91.
10. Rodrigo MJ, Morell F, Helm RM, Swanson M, Greife A, Antó JM, et al. Identification and partial characterization of the soybean-dust allergens involved in the Barcelona asthma epidemic. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:778-84.
11. Morell F, Orriols R, Molina C. Usefulness of skin test in farmer's lung. *Chest* 1985;87:202-3.
12. Morell F, Curull V, Orriols R, De Gracia J. Skin test in bird breeder's disease. *Thorax* 1986;41:538-41.
13. Metzger WJ, Butler JE, Swanson P, Reinders E, Richardson HB. Amplification of the enzyme-linked immunosorbent assay for measuring allergen-specific IgE and IgG antibody. *Clin Allergy* 1981;11:523-31.
14. Quanjer PHH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur Respir J* 1993;6 (Suppl 16):5-40.
15. Cotes JE, Chinn DJ, Quanjer PHH, Roca J, Yernault JC. Standardization of the measurement of transfer factor (diffusing capacity). *Eur Respir J* 1993;6(Suppl 16):41-52.
16. Roca J, Sanchis J, Agustí-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Roisin R, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1986;22:217-24.
17. Forster RE, Fowler WS, Bates DV, Van Lingen B. The absorption of carbon monoxide by the lungs during breathholding. *J Clin Invest* 1954;33:1135-45.
18. Morell F. Prueba de provocación cuando se sospecha una alveolitis alérgica extrínseca. *En: Pneumológica. Pautas, exploraciones y datos en medicina respiratoria*. 7.ª ed. Barcelona: Masson, 2002; p. 195.
19. Ramírez-Venegas A, Sancesos RH, Pérez Padilla R, Carrillo G, Setman M. Utility of a provocation test for diagnosis of chronic pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:862-9.
20. Patel AM, Ryu JH, Reed CH. Hypersensitivity pneumonitis: current concepts and future questions. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:661-70.
21. Brouwer J. Cross-reactivity between *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium*. *Int Arch Allergy Immunol* 1996;110:166-73.
22. Kumar A, Kurup VP. Murine monoclonal antibodies to glycoprotein antigens of *Aspergillus fumigatus* show cross-reactivity with other fungi. *Allergy Proc* 1993;14:189-93.
23. Hinojosa M. Stipetosis or hypersensitivity pneumonitis caused by esparto (*Stipa tenacissima*) fibers. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001;11:67-72.
24. Morell F, Roger A, Cruz MJ, Muñoz X, Rodrigo MJ. Suberosis: clinical study and new etiologic agents in a series of 8 patients [en prensa]. *Chest*.
25. De Gracia J, Morell F, Boffi JM, Curull V, Orriols R. Time of exposure as a prognostic factor in avian hypersensitivity pneumonitis. *Resp Med* 1989;83:139-43.
26. Morell F, Levy G, Orriols R, Ferrer J, De Gracia J, Sampol G. Delayed cutaneous hypersensitivity tests and lymphopenia as activity markers in sarcoidosis. *Chest* 2002;121:1239-44.

DISCUSIÓN

Los hallazgos, resultados y conclusiones más relevantes de cada uno de los estudios presentados ya se han discutido en sus respectivas publicaciones. Por este motivo, a continuación, se presenta un análisis crítico y una valoración más global de los trabajos que constituyen esta tesis doctoral, incidiendo muy especialmente en los aspectos comunes o diferenciales que se han observado entre la espartosis, la suberosis y el PCA, tanto en el rendimiento diagnóstico de las diferentes exploraciones complementarias realizadas, como en aquellos aspectos más novedosos que las series presentadas aportan a la comunidad científica. Para la discusión de todo ello, se incorporan nuevas evidencias publicadas en la literatura con posterioridad a la publicación de los artículos que constituyen esta tesis. Con el objetivo de facilitar este análisis comparativo se incluyen, además, algunas tablas que se presentan sucesivamente en los diferentes apartados de esta discusión, de acuerdo a su contenido.

1. Epidemiología de las NH

Observamos una diferente distribución por sexo en las 3 entidades (ver tabla 1), relacionada seguramente con las características propias de las actividades o profesiones que representan un factor de riesgo para desarrollarlas. Es especialmente llamativo el predominio de mujeres (75%) evidenciado entre los pacientes con PCA, lo que pone de manifiesto, tal y como se comenta en el artículo¹³, que esta enfermedad no es exclusiva de los cuidadores de aves. Muy al contrario, puede desarrollarse frecuentemente tras una exposición continuada a una carga antigénica reducida, como puede ser el caso de las amas de casa que pasan muchas horas expuestas a algún tipo de ave o pájaro que puedan tener en alguna habitación o sala de su domicilio; de hecho, esta forma de exposición podría incluso favorecer, tras una evolución lenta pero progresiva de una enfermedad paucintomática, que ésta se diagnostique en una fase ya de cronicidad.

Los porcentajes de pacientes nunca fumadores evidenciados en la espartosis, suberosis y PCA han sido de 47%, 37.5% y 78%, respectivamente (ver tabla 1), todos ellos superiores a los propios de la población adulta

española durante los años en los que se estudiaron estos pacientes. Teniendo esto en cuenta, parece que nuestros resultados, muy especialmente los obtenidos en la serie de PCA -por otra parte, la más numerosa- están en concordancia con trabajos previos que ya se discuten en dicho artículo, en cuanto a que parece confirmarse que el tabaquismo podría tener un papel protector en el eventual desarrollo de estas enfermedades. Dicho efecto sería debido a una inhibición, por parte del tabaquismo, de la respuesta inmune T-dependiente y T-independiente⁵⁶.

TABLA 1
Características epidemiológicas de las 3 formas de NH

	ESPARTOSIS (n=20)	SUBEROSIS (n=8)	PCA (n=86)
Edad	37 (18-62)	37 (26-57)	47 (9-76)
Sexo (H/M)	20/0	3/5	21/65
Tabaquismo (Si/Ex/No)	6/3/8 ¹	3/2/3	12/7/67
Tiempo de exposición previo al Dx* (años)	13.6 (0.4-40)	9.6 (1-18)	9.9 (0.1-50) ²
Retraso diagnóstico (años)	1.15 (0.1-8)	2.6 (0.5-5)	1.6 (0-10) ³

* Dx: diagnóstico

¹ No se dispone de esta información en 3 pacientes.

² Tiempo de exposición en función de la fase de la enfermedad en la que se diagnosticaron: aguda: 5.6 (0.1-20), subaguda: 10.8 (0.2-50), crónica 16 (3-40).

³ Retraso diagnóstico en función de la fase de la enfermedad en la que se diagnosticaron: aguda: 0.8 (0-5), subaguda: 1.7 (0.1-8), crónica 3.2 (0.5-10).

2. Manifestaciones clínicas:

Hemos podido comprobar que las manifestaciones clínicas de la espartosis, la suberosis y el PCA son bastante similares (ver tabla 2), siendo las más frecuentes en todas ellas la disnea (con sibilantes más frecuentemente en la suberosis), la tos (con expectoración más frecuentemente en la suberosis y el PCA), la fiebre (especialmente en las formas de presentación aguda) y la astenia. Un aspecto diferencial que podemos destacar es la presencia de síntomas de rino-conjuntivitis en algunos pacientes con PCA que, como se discute en nuestra serie, podrían tener un origen alérgico en algunos casos pero, en otros, tal como han sugerido algunos autores⁵⁷, reflejar la posible existencia de una forma nasal de PCA.

TABLA 2
Características clínicas de las 3 formas de NH¹

	ESPARTOSIS (n=20)	SUBEROSIS (n=8)	PCA (n=86)
Disnea	18 (90%)	8 (100%)	84 (98%)
Tos	14 (70%)	7 (87.5%)	71 (82%)
Fiebre	17 (85%)	5 (62.5%)	44 (52%)
Astenia	9 (45%)	3 (37.5%)	39 (46%)
Expectoración	3 (15%)	3 (37.5%)	33 (38%)
Tirantez torácica	6 (30%)	--	15 (18%)
Artromialgias	5 (25%)	1 (12.5%)	--
Pérdida de peso	3 (15%)	--	28 (33%)
Rinitis	--	--	30 (35%)
Conjuntivitis	--	--	21 (25%)
Escalofríos	5 (25%)	--	--
Sudoración	4 (20%)	--	--
Cefalea	--	1 (12.5%)	--

¹ Datos obtenidos de la información recogida, retrospectivamente, en las historias clínicas de los pacientes.

3. Exploración física:

La presencia de crepitantes en la auscultación respiratoria es el hallazgo más común a las 3 entidades en el momento del diagnóstico (ver tabla 3). En algunos pacientes con PCA se evidencia la presencia de acropaquias, cianosis, y/o signos de ICCV, signos que sin duda responden a la no infrecuente progresión de esta enfermedad hacia su fase de cronicidad, con eventual desarrollo de una insuficiencia respiratoria crónica. Es cierto que el porcentaje de pacientes con acropaquias en nuestro estudio (7%) fue muy inferior al 51% evidenciado por otros autores⁵⁸, pero debe destacarse que el 83% de pacientes que las tenían se encontraban en la fase crónica de su enfermedad y un 33% de los pacientes en esta fase crónica las presentaban. Estos resultados son concordantes con los del estudio antes mencionado⁵⁸, en el cual, tras estadiar en 3 grupos la gravedad de la enfermedad de los pacientes, al inicio y final de su seguimiento (durante un tiempo tiempo medio de 2.6 años), y según criterios clínicos, radiológicos y funcionales, se observó que: **a)** la presencia de acropaquias fue

progresivamente más frecuente entre los pacientes en los sucesivos estadios de menor a mayor gravedad de la enfermedad (46%, 51% y 55%, sucesivamente) y **b)** el porcentaje de pacientes que empeoraron durante su seguimiento fue mayor entre los que presentaban inicialmente acropaquias (36%) que entre los que no las presentaban (13%). Así pues, los resultados de nuestra serie parecen reafirmar la hipótesis sugerida por los autores del estudio descrito⁵⁸, según la cual la presencia de acropaquias representaría un signo de peor pronóstico de la enfermedad.

TABLA 3
Signos evidenciados en la exploración física en las 3 formas de NH¹

	ESPARTOSIS (n=15) ²	SUBEROSIS (n=8)	PCA (n=86)
Crepitantes	8 (53%)	4 (50%)	68 (80%)
Sibilantes	--	4 (50%)	13 (15%)
Acropaquias	--	--	6 (7%)
Cianosis	--	--	4 (5%)
Signos de ICCV*	--	--	3 (3%)
Sin hallazgos significativos	--	4 (50%)	13 (15%)

* ICCV: insuficiencia cardíaca congestivo-venosa.

¹ Datos obtenidos de la información recogida, retrospectivamente, en las historias clínicas de los pacientes.

² No se dispone de datos en los otros 5 pacientes.

4. Cronología de las NH y de su diagnóstico:

Sí se han podido objetivar algunas diferencias de crucial trascendencia, entre las 3 formas de NH, a nivel de su forma de presentación clínica, de la fase de la enfermedad en la que más frecuentemente se encuentran los pacientes en el momento de su diagnóstico y de su potencial progresión, las cuales se discuten a continuación.

Entre los pacientes de nuestras series de espartosis y suberosis fue muy predominante y característica la presentación aguda y episódica de sus síntomas, horas después del inicio y durante la jornada laboral ó, de forma más tardía, en horario vespertino tras finalizar dicha jornada (ver tabla 4). Entre los pacientes afectados de PCA, en cambio, una forma de presentación de la enfermedad más subaguda, con aparición más insidiosa de astenia,

pérdida de peso, tos y/o disnea, se objetivó en un porcentaje similar al de los casos con presentación más aguda de sus síntomas (43% versus 40%, respectivamente -ver tabla 4-).

Hemos podido corroborar, como se afirmaba en un trabajo previo de nuestro grupo con un número menor de pacientes⁴², que en la espartosis es más frecuente que en otras formas de NH una presentación inicial aguda de la enfermedad, con severas manifestaciones clínicas, con disnea intensa, que requiere atención del paciente en el servicio de urgencias o ingreso hospitalario (en nuestra serie²⁰, el 85% de pacientes habían requerido previamente al diagnóstico, al menos, un ingreso hospitalario o atención en el servicio de urgencias), donde se objetiva en muchas ocasiones una insuficiencia respiratoria aguda (en nuestra serie²⁰, un 41% de pacientes presentaron una insuficiencia respiratoria en su gasometría de urgencias y un 47% una pO_2 entre 60 y 70 mmHg). Esta forma de presentación, probablemente, comporta una más rápida consulta a centros hospitalarios o de salud, una valoración médica más precoz y, en consecuencia, un diagnóstico preciso en una fase más temprana de la enfermedad (el tiempo medio de retraso diagnóstico en nuestra serie fue de 1.15 años, el menor de los 3 estudios presentados -ver tabla 1 previa-), lo que a largo plazo comporta un mejor pronóstico. De hecho, prácticamente todos los pacientes de nuestra serie estaban asintomáticos y con una función pulmonar normal tras un periodo de seguimiento en el que se siguió una estricta evitación antigénica. En cualquier caso no debe olvidarse que, si no se abandona la exposición a la fuente antigénica, esta enfermedad puede también progresar hacia una fase de cronificación, con signos de atrapamiento aéreo o evidencia de fibrosis pulmonar, tal y como se ha descrito en trabajos previos⁵⁹⁻⁶¹.

El tiempo medio de retraso diagnóstico en la suberosis, de 2.6 años (ver tabla 1 previa), es moderadamente superior al de la espartosis, pero su evolución clínico-funcional en el tiempo ha demostrado ser favorable, tras un periodo medio de seguimiento de 14.2 meses sin exposición antigénica (la mitad de los pacientes estaban asintomáticos y la otra mitad referían sólo disnea con grandes esfuerzos). En cualquier caso, trabajos previos describían que las formas de presentación subaguda y crónica eran más frecuentes entre pacientes afectos de suberosis que entre los que presentan PCA⁶². Por tanto, podemos concluir que la suberosis puede igualmente progresar a estadios más graves si no se adoptan rápidas y estrictas medidas de evitación antigénica.

El estudio y seguimiento de nuestra serie de pacientes (n=86) con PCA ha puesto de manifiesto que un 17% de ellos se diagnostican ya en un estadio muy avanzado de su enfermedad (ver tabla 4), en la fase crónica

de la misma, cuando ya se ha producido una progresión de ésta hacia una EPOC con un trastorno ventilatorio obstructivo y presencia de áreas de enfisema en la TC torácica o, más frecuentemente, hacia una fibrosis pulmonar bien establecida que puede comportar graves manifestaciones clínicas y un severo trastorno ventilatorio restrictivo que puede incluso conducir a una insuficiencia respiratoria crónica (3 de nuestros pacientes, incluso, fueron sometidos a un trasplante pulmonar) . De hecho, un trabajo previo estimó una supervivencia del 29% a los 5 años para los pacientes con PCA en la fase crónica de la enfermedad que seguían exponiéndose a antígenos aviares⁶³. Todo ello, pues, pone de manifiesto la importancia crucial del diagnóstico precoz de esta enfermedad⁴⁸ y nos obliga a incluir al PCA en el diagnóstico diferencial de todos aquellos casos de fibrosis pulmonar en los que exista un antecedente de exposición a aves.

TABLA 4
Cronología de los síntomas respecto a la exposición al agente causal y fase de la enfermedad en la que se diagnosticaron los pacientes

	ESPARTOSIS (n=20)	SUBEROSIS (n=8)	PCA (n=86)
CRONOLOGIA DE LOS SÍNTOMAS			
Durante la jornada laboral (horas tras su inicio)	6 (30%)	3 (37.5%)	NA*
Tras la jornada laboral (horario vespertino)	10 (50%)	2 (25%)	NA*
Mejoría durante los f/s*	6 (30%)	6 (75%)	NA*
FASE DE LA ENFERMEDAD AL DIAGNÓSTICO			
Aguda	ND*	ND*	34 (40%)
Subaguda	ND*	ND*	37 (43%)
Crónica	ND*	ND*	15 (17%)
(< 1 año con síntomas)	15 (75%)	ND*	ND*

* f/s: fin de semana / ND: información no disponible / NA: no aplicable.

5. Radiografía de tórax:

Es conocido que en las NH pueden encontrarse todo tipo de patrones radiológicos, siendo el más frecuente el patrón intersticial y, no excepcional, la presencia de una Rx de tórax normal. Lo mismo se ha objetivado en nuestros trabajos, en los que, tras revisar los hallazgos radiológicos descritos por el clínico responsable y/o el radió-

logo en las historias clínicas de los pacientes, se constata una prevalencia del patrón intersticial en un 44%, 50% y 79% de los casos con espartosis, suberosis y PCA, respectivamente (ver tabla 5). En muy pocas ocasiones hemos observado un patrón alveolar, siendo éste algo más frecuente entre nuestros pacientes con espartosis (11%), muy probablemente en relación con la más frecuente forma de presentación aguda de esta enfermedad. En cualquier caso, es interesante destacar que en la serie de pacientes afectos de PCA hemos evidenciado que puede objetivarse un patrón intersticial en la fase aguda de la enfermedad con una frecuencia similar (79%) a la observada en las fases subaguda (73%) y crónica (93%), sin entrar en consideraciones respecto a la severidad del mismo.

También resulta llamativa la localización predominantemente basal de las alteraciones radiológicas observadas en las 3 series de pacientes (ver tabla 5), teniendo en cuenta que la apical es la localización típicamente descrita en estas enfermedades, especialmente en sus fases más avanzadas. Considerando que un 43% y 17% de los pacientes de la serie de PCA se diagnosticaron, respectivamente, en la fase subaguda o crónica de la enfermedad, y que sólo en un 4% de las radiografías patológicas encontradas entre las realizadas a los pacientes de esta serie se describió un predominio apical de las alteraciones¹³, es en esta entidad donde los resultados evidenciados difieren más de los descritos hasta ahora en la literatura internacional.

TABLA 5
Hallazgos en la Rx de tórax en las 3 formas de NH¹

	ESPARTOSIS (n=18)	SUBEROSIS (n=8)	PCA (n=82)
TIPO DE PATRÓN			
Normal	2 (11.1%)	4 (50%)	10 (12%)
Alveolar	2 (11.1%)	--	1 (1%)
Intersticial	8 (44.4%)	4 (50%)	65 (79%) ^{2,3}
Alveolo-intersticial	6 (33.3%)	--	6 (7%)
LOCALIZACIÓN DE LOS HALLAZGOS			
Predominio basal	“Más frecuente”	4/4 (100%)	41 (50%)
Predominio apical	ND*	--	3 (4%)
Difusa	ND*	--	38 (46%)

* ND: información no disponible.

¹ Datos obtenidos de la información recogida, retrospectivamente, en las historias clínicas de los pacientes.

² Tipos de patrón intersticial en estos 65 pacientes:

reticular: 38 (58%), retículo-nodulillar: 13 (20%), nodulillar: 10 (15%), miliar: 4 (6%)

³ Hallazgo de un patrón intersticial en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la Rx de tórax: aguda: 26/33 (79%), subaguda: 25/34 (73%), crónica: 14/15 (93%).

6. TC/TCAR torácica:

Pese a que puede existir cierto grado de solapamiento entre los hallazgos en la TC tóraca presentes en los diferentes estadios de las NH, se han descrito algunos de ellos como los más característicos en cada uno de dichos estadios^{49,64}: en la fase aguda, opacidades micronodulares confluentes; en la fase subaguda, áreas en vidrio deslustrado, nódulos centrolobulillares, atrapamiento aéreo y patrón en mosaico, y en la fase crónica, opacidades lineales subpleurales irregulares, distorsión de la arquitectura pulmonar y fibrosis en panal de abeja. La combinación de patrón en mosaico junto a la presencia de áreas en vidrio deslustrado y nódulos centrolobulillares es altamente sugestiva del diagnóstico⁶⁵.

La dificultad en el diagnóstico de las NH es mayor cuando su forma de presentación es crónica, debido a que sus manifestaciones clínicas y funcionales son inespecíficas y frecuentemente se asemejan a las que se dan en las neumonías intersticiales idiopáticas, particularmente en la FPI (NIU) y la NINE (según consenso de clasificación de ATS/ERS publicado en el año 2002)⁶⁶. De hecho, si bien las NH pueden cursar con un patrón histológico distintivo, caracterizado por la presencia de neumonía intersticial bronquiocéntrica, granulomas no caseificantes y bronquiolitis celular⁶⁷, estudios recientes han demostrado que pueden presentarse con diferentes patrones histológicos tales como el de NIU ó NINE^{51,52,68}.

En relación con la rentabilidad diagnóstica de la TC torácica, un trabajo previo demostró que con esta exploración podía discriminarse un diagnóstico concreto, con un elevado nivel de confianza, en 39 (62%) de los casos de una serie de 63 pacientes en los que se había confirmado, mediante biopsia pulmonar quirúrgica previa, el diagnóstico de fibrosis pulmonar idiopática (n=36, 33 de ellos con un patrón de NIU y los otros 3 con un patrón de NID) ó de neumonitis por hipersensibilidad (n=27, y 19 de ellos con una forma de presentación crónica de la enfermedad, con más de 1 año de evolución de sus síntomas)⁵⁴. Sin embargo, de esos 19 pacientes con una forma de presentación crónicas de NH, sólo 7 (37%) pudieron ser diagnosticados con certeza de su enfermedad mediante la TC torácica. Por todo ello, en dicho trabajo se concluyó que la TC torácica puede ser útil en distinguir una FPI de una NH en muchos casos, pero no en todos, debido a que en las formas crónicas de NH pueden evidenciarse hallazgos en la TC indistinguibles de los presentes en una NIU y a que el patrón de NID no puede ser claramente diferenciado de los hallazgos evidenciados en las formas de presentación aguda o subaguda de las NH⁵⁴.

En esta misma línea, los autores de una publicación posterior en la que se analizaron retrospectivamente las TC torácicas de 24 pacientes con FPI (n=12) ó con NH en fase crónica (n=12), describieron más concretamente la sensibilidad (50% y 92%, respectivamente) y especificidad (75% y 83%, respectivamente) de dicha exploración en el diagnóstico de ambas entidades⁵⁵.

Resultados parecidos a los del estudio antes comentado⁵⁴ (en el que no se incluyeron pacientes con patrón de NINE y donde sí se incluyeron pacientes con formas subagudas de NH) se han descrito más recientemente en relación a la rentabilidad diagnóstica de la TC torácica en diferenciar pacientes con NH sólo en fase crónica de otros con FPI o NINE (con diagnóstico verificado histológicamente); concretamente, Silva CI, et al⁶⁷ reportaron haber establecido un diagnóstico de confianza en 70 (53%) de las 132 valoraciones de TCAR realizadas (se evaluaron las TCAR de 66 pacientes por 2 radiólogos independientes) y este diagnóstico fue correcto en 66 (95%) de los casos⁶⁷. En este estudio, además, se identificaron los hallazgos de la TC torácica que más ayudan a establecer el diagnóstico diferencial entre las 3 entidades estudiadas, que fueron las siguientes: **a)** en una forma crónica de NH: presencia de áreas lobulares con atenuación y vascularización reducidas, nódulos centrolobulillares y ausencia de predominio de las alteraciones en campos pulmonares inferiores, **b)** en una NINE: relativa preservación subpleural, ausencia de áreas lobulares con atenuación reducida y ausencia de panalización y **c)** en una FPI: panalización de predominio basal, ausencia de preservación subpleural y ausencia de nódulos centrolobulillares (estos hallazgos sugestivos de FPI también han sido corroborados en otros estudios^{54,55}). Con todo ello, los autores concluyeron que con la TCAR se puede establecer un diagnóstico diferencial entre ellas en aproximadamente un 50% de los casos⁶⁷.

Probablemente el motivo fundamental por el cual la rentabilidad diagnóstica de la TC torácica no es más elevada es el hecho de que, en la práctica clínica diaria, hallazgos característicos de estas diferentes entidades pueden evidenciarse en un mismo paciente o presentarse de forma aislada en pacientes afectados de una enfermedad distinta a aquella a la que habitualmente son asociados. Por ejemplo: los pacientes con FPI pueden presentar áreas en vidrio deslustrado y ser entonces indistinguibles de algunos casos de formas de presentación aguda o subaguda de NH⁵⁴; la presencia de nódulos hiperlucientes dentro de las áreas de fibrosis no excluye el diagnóstico de FPI⁵⁵; la presencia de atrapamiento aéreo espiratorio es más frecuente en la forma de presentación crónica de las NH pero puede evidenciarse también en la FPI (17% versus 6%, respectivamente)⁵⁵; la presencia de fibrosis en una forma crónica de NH suele presentar una distribución irregular y heterogénea (y no un predominio basal y

periférico, más propio de la FPI), pero se ha descrito que hasta en un 25% de casos se objetiva un patrón fibrótico indistinguible del propio de la FPI)⁵⁵, ... etc.

Como se discute también más adelante (ver apartado número 13 de esta discusión), actualmente se sabe, además, que las NH pueden progresar no sólo hacia uno sino hacia diferentes patrones histológicos de fibrosis pulmonar similares a los de otras entidades^{51,52,68}. Por este motivo, se han llevado a cabo diferentes estudios con el fin de evaluar el rendimiento diagnóstico de la TCAR, con cortes de 1-2 mm de grosor; a la hora de identificar patrones o hallazgos específicos que pudieran conllevar un mejor o peor pronóstico en estos pacientes (utilizando como referencia piezas histológicas obtenidas por biopsia pulmonar quirúrgica). En este sentido, se han comparado los hallazgos en la TCAR de pacientes con NH crónica con y sin evidencia de fibrosis en la BPQ, evidenciando que los primeros suelen tener un patrón reticular más extenso, y presentan más frecuentemente bronquiectasias por tracción, panalización y un patrón característico de NIU⁶⁹. Sin embargo, si bien la presencia de fibrosis en la BPQ se asoció con una menor supervivencia, los hallazgos mencionados de la TCAR no se asociaron con esta evolución⁶⁹. Por el contrario, otros trabajos describen resultados contradictorios con los mencionados, concluyendo que los pacientes con evidencia de fibrosis en la TCAR (con opacidades lineales irregulares, bronquiectasias por tracción y panalización) -al igual que los que presentan una mayor afectación de las PFR o crepitantes en la exploración- tienen un peor pronóstico y una mayor mortalidad (ésta última directamente relacionada con el grado de extensión de dicha fibrosis)⁷⁰.

Nuestra experiencia con esta exploración (ver tabla 6) nos permite corroborar muchas de las afirmaciones hechas anteriormente. Los hallazgos más frecuentemente descritos en las 3 series fueron las áreas en vidrio deslustrado, el atrapamiento aéreo/patrón en mosaico y el patrón micronodulillar; los más propios de las formas aguda y subaguda, que fueron a su vez las más frecuentes en las 3 series (especialmente en la espartosis y la suberosis). Por otra parte, otros hallazgos como las bronquiectasias o el engrosamiento de septos se observaron predominantemente en formas subagudas o crónicas de pacientes con PCA y la panalización se describió únicamente en los pacientes con PCA crónica. La aportación más diferencial respecto a estudios previos ha sido la demostración de la existencia de áreas de enfisema pulmonar en 7 (17%) de las TC de pacientes con PCA, 5 de los cuales jamás habían sido fumadores. Este hecho sí ha sido descrito anteriormente en pacientes con pulmón del granjero^{71,72}, entidad en la que puede ser incluso más frecuente que la constatación de un patrón de fibrosis pulmonar⁷¹, pero se ha reportado muy excepcionalmente en los pacientes con PCA⁷³. Muy recientemente se ha reportado en una

serie de 21 pacientes con diferentes tipos de NH¹⁰ que 1 (9%) de 11 pacientes con presentación subaguda de la enfermedad y 2 (25%) de 8 pacientes con presentación crónica de la misma presentaron enfisema compensatorio a nivel bilateral y periférico en la TCAR. A la espera de ver si se describen en el futuro nuevos casos similares en la literatura, por el momento no se debería excluir el diagnóstico de PCA en un paciente ante el que se sospeche por criterios clínicos esta enfermedad y que muestre áreas de enfisema en la TC torácica.

Como conclusión, tal y como se comenta en la serie de pacientes con PCA¹³, pensamos que existen numerosas evidencias que justifican la implantación de esta exploración en una fase temprana del proceso diagnóstico de las NH, en un mismo escalón del algoritmo diagnóstico al de otras pruebas no invasivas como la Rx de tórax o las PFR, dada su generalizada accesibilidad, su naturaleza no invasiva, su capacidad para detectar alteraciones parenquimatosas no detectadas frecuentemente en la radiografía simple y las últimas evidencias que sugieren que puede aportar importante información adicional con implicaciones pronósticas. Por todo ello, así se refleja ya en la modificación de nuestro algoritmo diagnóstico, recientemente revisado y publicado en 2012²⁵.

TABLA 6
Hallazgos en la TC* torácica en las 3 formas de NH¹

	ESPARTOSIS (n=14)	SUBEROSIS (n=7)	PCA (n=41)
Áreas en vidrio deslustrado	5 (35.7%)	3 (42.8%)	28 (68%)
Atrapamiento aéreo / Patrón en mosaico	3 (21.4%)	3 (42.8%)	25 (61%)
Patrón micronodulillar	4 (28.6%)	2 (28.6%)	17 (41%)
Bronquiectasias	--	--	19 (46%) ²
Engrosamiento de septos	--	--	12 (29%) ³
Enfisema	--	--	7 (17%) ⁴
Fibrosis en panal	--	--	3 (7%) ⁵
Patrón intersticial no especificado	2 (10%)	--	--
Normal	--	1 (14.3%)	1 (2%)

* TC: tomografía computerizada.

¹ Datos obtenidos de la información recogida, retrospectivamente, en las historias clínicas de los pacientes.

² Hallazgo de bronquiectasias en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la TC torácica: aguda: 3/12 (25%), subaguda: 11/20 (55%), crónica: 5/9 (55%).

³ Hallazgo de engrosamiento de septos en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la TC torácica: aguda: 0/12 (0%), subaguda: 8/20 (40%), crónica: 4/9 (44%).

⁴ Hallazgo de enfisema en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la TC torácica: aguda: 3/12 (25%), subaguda: 2/20 (10%), crónica: 2/9 (22%).

⁵ Hallazgo de fibrosis en panal en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la TC torácica: aguda: 0/12 (0%), subaguda: 0/20 (0%), crónica: 3/9 (33%).

7. Pruebas funcionales respiratorias (PFR):

Es bien conocido que las NH suelen evolucionar hacia un trastorno ventilatorio restrictivo con reducción de los volúmenes pulmonares y frecuente alteración de la difusión pulmonar⁷⁴. A partir de los datos obtenidos en los estudios funcionales respiratorios practicados a los pacientes de nuestras 3 series (ver tabla 7) podemos corroborar que el patrón restrictivo es, efectivamente, el tipo de trastorno ventilatorio más frecuentemente identificado en las 3 entidades en nuestro ámbito. Sin embargo, vale la pena enfatizar algunas otras conclusiones, válidas para las 3 entidades: **1)** en pacientes diagnosticados en una fase más precoz no es infrecuente encontrar una espirometría normal (por ejemplo, en un 56% y 62% de los pacientes con espartosis y suberosis de nuestras series, respectivamente) y **2)** en sus fases iniciales puede encontrarse, como única alteración funcional, una mayor o menor disminución de la capacidad de difusión pulmonar.

Así mismo, gracias al elevado número de pacientes con PCA estudiados en la serie presentada aquí, podemos añadir algunas conclusiones más, válidas sólo para esta entidad: **1)** un pequeño porcentaje de pacientes (9% en nuestra serie) desarrollan un trastorno ventilatorio obstructivo, en muchos casos sin presentar antecedentes de tabaquismo, **2)** no infrecuentemente, y en cualquier fase de la enfermedad, puede detectarse la presencia de atrapamiento aéreo ($RV \geq 140\%$), incluso sin evidencias de obstrucción en la espirometría, atribuible en algunos casos al desarrollo de enfisema pulmonar pero, mayoritariamente, a una afectación de la pequeña vía aérea (secundaria a la bronquiolitis característica de las NH) y **3)** en la fase crónica de la enfermedad la capacidad de difusión pulmonar está invariablemente reducida (probablemente esta afirmación sería extrapolable a otras formas de NH).

En relación con el hallazgo de un 9% de pacientes con PCA que desarrollan un trastorno ventilatorio obstructivo, hay que destacar que la presencia de obstrucción se ha descrito anteriormente en el seguimiento de pacientes con pulmón del granjero; por ejemplo, en el 42% de una serie tras un seguimiento de 6 años⁷⁵, ó en un 40% de los pacientes valorados en un estudio previo de nuestro grupo⁷⁶. En otras formas de NH, sin embargo, este hallazgo ha sido muy excepcionalmente reportado. En un estudio de 21 pacientes con NH¹⁰ (que incluía pacientes con PCA, NH secundarias a productos químicos, a tintes, a pinturas, ...), por ejemplo, la presencia de un trastorno obstructivo fue más frecuente que la de uno restrictivo entre los pacientes que se encontraban en la fase crónica

de su enfermedad. Concretamente el desarrollo de un trastorno ventilatorio obstructivo en pacientes con PCA había sido hasta ahora muy infrecuentemente descrito, habiéndose tan sólo evidenciado una afectación predominante de las pequeñas vías aéreas que provoca una bronquiolitis con reducción de los mesoflujos espiratorios⁷⁷.

En conclusión, es evidente que en la actualidad es imprescindible realizar un estudio funcional respiratorio completo (y no sólo espirométrico) ante la sospecha diagnóstica de cualquier forma de NH.

TABLA 7
Resultados de las PFR* (espirometría y/o volúmenes estáticos y/o difusión pulmonares) en las 3 formas de NH¹

	ESPARTOSIS	SUBEROSIS	PCA
ESPIROMETRÍA	(n=16)	(n=8)	(n=78)
Normal	9 (56.2%)	5 (62.5%)	8 (10%)
Restrictivo	7 (43.7%)	3 (37.5%)	60 (77%) ⁴
Obstructivo	--	--	7 (9%) ⁵
Mixto	--	--	3 (4%)
VOLÚMENES PULMONARES	ND*	(n=4)	(n=57)
Normales	ND*	4 (100%)	23 (40.3%)
TLC* < 80%	ND*	--	19 (33%)
RV* > 140%	ND*	--	15 (26%) ⁶
DIFUSIÓN PULMONAR	(n=16)	(n=6)	(n=53)
Normal	6 (37.5%)	4 (66%)	8 (15%)
DLCO* < 80%	10 (62.5%) ²	2 (33%) ³	45 (85%) ⁷

* PFR: pruebas funcionales respiratorias / TLC: capacidad pulmonar total / RV: volumen residual / DLCO: capacidad de difusión pulmonar / ND: información no disponible.

¹ Datos obtenidos de la información recogida, retrospectivamente, en las historias clínicas de los pacientes.

² En 4 pacientes fue la única alteración observada y en 6 se acompañó de una FVC < 80%.

³ En 1 paciente fue la única alteración observada y en otro se acompañó de una FVC < 80%.

⁴ Demostración de un trastorno ventilatorio restrictivo en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la espirometría: aguda: 25/31 (81%), subaguda: 23/34 (68%), crónica: 12/13 (92%).

⁵ Demostración de un trastorno ventilatorio obstructivo en función de la fase de la enfermedad en la que se realizó la espirometría: aguda: 1/31 (3%), subaguda: 5/34 (15%), crónica: 1/13 (8%).

⁶ Demostración de la presencia de atrapamiento aéreo en función de la fase de la enfermedad en la que se determinaron los volúmenes pulmonares: aguda: 4/22 (18%), subaguda: 9/23 (39%), crónica: 2/12 (17%).

⁷ Demostración de una disminución de la capacidad de transferencia del CO en función de la fase de la enfermedad en la que se estudió la difusión pulmonar: aguda: 17/19 (89%), subaguda: 18/24 (75%), crónica: 10/10 (100%).

8. Determinación sérica de anticuerpos IgG específicos:

La utilidad de la determinación sérica de anticuerpos IgG específicos en el diagnóstico de las NH ha sido controvertida en el pasado y actualmente es bien conocido que un resultado positivo representa un muy válido marcador de exposición más que de enfermedad⁴⁷. También se ha descrito que cuanto más elevada es esta determinación, mayor es la probabilidad de desarrollar una NH; por otro lado, estudios longitudinales han puesto de manifiesto un descenso de los títulos de anticuerpos tras una continuada evitación antigénica⁷⁸.

Los resultados evidenciados con esta técnica en nuestros 3 estudios (ver tabla 8) corroboran la primera afirmación hecha en esta apartado, puesto que hemos evidenciado porcentajes de positividad, frente a los diferentes antígenos (hongos, suero de aves, ...), similares entre los pacientes con NH y los controles expuestos asintomáticos. En el caso concreto del PCA, en estudios previos de nuestro grupo habíamos detectado diferencias significativas en los porcentajes de positividad de esta prueba entre pacientes (100%) y controles expuestos asintomáticos (50%)⁷⁹. Sin embargo, en el estudio de pacientes con PCA de la presente tesis, se evidenciaron anticuerpos IgG específicos en el 87% de los colombófilos asintomáticos (si bien con intensa exposición a palomas); este hallazgo parece corroborar, tal y como se demostró en un estudio previo⁸⁰, que existe una asociación entre el nivel sérico de estos anticuerpos y las horas por semana y número de aves a las que se expone el paciente. Por tanto, es posible que un resultado positivo en esta prueba pueda ser más sugestiva de enfermedad en una persona expuesta a una sola ave en su casa que en otra expuesta a muchas palomas en un palomar, por ejemplo.

En cualquier caso, esta prueba sigue teniendo un papel importante en el estudio de las NH, primero como método de confirmación de exposición a un antígeno causal y, segundo, como marcador pronóstico de la posibilidad de tener la enfermedad⁸¹ (OR: 5.3), tal y como ya se ha comentado anteriormente en la introducción. Además, en los trabajos aquí presentados, se ha evidenciado su utilidad en la demostración de la capacidad antigénica de nuevos agentes causales sospechados como posibles causas etiológicas de diferentes formas de NH (por ejemplo, de las fibras de esparto o el corcho).

TABLA 8
Resultados de la determinación de anticuerpos IgG específicos (ELISA*)
en las 3 formas de NH

	ESPARTOSIS	SUBEROSIS	PCA
PACIENTES			
Esparto causal (precipitinas)	6/14 (43%)	NA*	NA*
Fibras de esparto no contaminadas	(15%)	NA*	NA*
Corcho	NA*	4/6 (66%)	NA*
Penicillium	(60%)	6/7 (86%)	NA*
Aspergillus	(50%)	4/7 (57%)	NA*
Mucor	(17%)	ND*	NA*
Suero de ave / "Bloom"* de paloma	NA*	NA*	72/78 (92%) [†]
EXPUESTOS ASINTOMÁTICOS			
Esparto causal (precipitinas)	ND*	NA*	NA*
Fibras de esparto no contaminadas	0/6 (0%)	NA*	NA*
Penicillium	3/6 (50%)	ND*	NA*
Aspergillus	4/6 (66%)	ND*	NA*
Mucor	0/6 (0%)	ND*	NA*
Suero de ave / "Bloom"* de paloma	NA*	NA*	52/60 (87%) [†]

* ELISA: análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas / NA: no aplicable / ND: no determinado / "Bloom": productos de descamación de paloma.

[†] Demostración de anticuerpos IgG específicos frente a ≥ 1 antígeno aviar.

9. Pruebas cutáneas específicas de hipersensibilidad inmediata (PCEHI):

De forma similar a como sucedía con la determinación de anticuerpos IgG específicos, estudios previos de nuestro grupo demostraron que las PCEHI son útiles para discriminar entre pacientes con PCA⁸² ó pulmón del granjero⁷⁶ y sus respectivos controles expuestos asintomáticos. En las series aquí presentadas se evidenció también una elevada sensibilidad diagnóstica de esta técnica utilizando diferentes extractos antigénicos en las diferentes entidades: esparto causal en la espartosis, diferentes hongos y corcho en la suberosis y suero de aves y/o "bloom" de paloma en el PCA (ver tabla 9). Sin embargo, su especificidad ha sido muy reducida en la serie de PCA, en la cual se han obtenido también resultados positivos en un 64% y 88% de los controles expuestos asin-

tomáticos utilizando extractos antigénicos de suero de aves y “bloom” de paloma, respectivamente. Tal y como ya se discute en dicho trabajo, este hallazgo podemos atribuirlo al elevado nivel medio de anticuerpos IgG específicos entre los controles colombófilos asintomáticos de este estudio y a la correlación demostrada anteriormente entre éstos y el diámetro de la pápula tras las PCEHI en pacientes con PCA⁸³.

Así pues, seguimos pensando que esta prueba sigue siendo útil para el diagnóstico de las diferentes formas de NH, valorada de forma conjunta junto a otras, aunque a la vista de los resultados aquí presentados su especificidad parece reducirse ante la sospecha diagnóstica de un caso de PCA si éste presenta un nivel de exposición a antígenos aviares muy elevado. Además, y al igual que la determinación sérica de anticuerpos IgG específicos, es de gran ayuda en la demostración de exposición a un antígeno causal concreto de NH.

TABLA 9
Resultados de las PCEHI* en las 3 formas de NH

	ESPARTOSIS	SUBEROSIS	PCA
PACIENTES			
Esparto causal	5/12 (45%)	NA*	NA*
Corcho	NA*	4/5 (80%)	NA*
Penicillium	ND*	3/4 (75%)	NA*
Aspergillus	ND*	1/1 (100%)	NA*
Mucor	ND*	ND*	NA*
Suero de ave	NA*	NA*	54/69 (78%)
“Bloom”* de paloma	NA*	NA*	17/17 (100%)
EXPUESTOS ASINTOMÁTICOS			
Suero de ave	NA*	NA*	32/50 (64%)
“Bloom”* de paloma	NA*	NA*	44/50 (88%)
CONTROLES SANOS			
Esparto causal	1/12 (8%)	NA*	NA*
Corcho	NA*	1/12 (8%)	NA*
Penicillium	0/12 (0%)	0/12 (0%)	NA*
Aspergillus	1/12 (8%)	1/12 (8%)	NA*
Mucor	1/12 (8%)	1/12 (8%)	NA*

* PCEHI: pruebas cutáneas específicas de hipersensibilidad inmediata / NA: no aplicable / ND: no determinado / “Bloom”: productos de descamación de paloma.

10. Lavado broncoalveolar (LBA):

El perfil del recuento celular del LBA en personas sanas es el siguiente: macrófagos $\geq 80\%$, linfocitos $\leq 15\%$, neutrófilos $\leq 3\%$, eosinófilos $\leq 1\%$, índice CD_4/CD_8 1.4-1.8, $CDI < 4\%$ ²⁵. En el caso de las NH, en cambio, es el de una alveolitis linfocitaria (linfocitos $\geq 20\%$), con predominio de linfocitos T- CD_8 (en contraste con el de la sarcoidosis, en la que generalmente el predominio es de linfocitos T CD_4)⁸⁴ y un ratio $CD_4/CD_8 < 1$ ⁴⁷. Sin embargo, este perfil depende del tiempo transcurrido desde la última exposición antigénica, de modo que el número total de linfocitos T- CD_8 disminuye progresivamente tras el cese de exposición y, con ello, el ratio CD_4/CD_8 puede volver a ser > 1 . La presencia de una gran cantidad de linfocitos T- CD_8 , especialmente en la fase aguda, podría tener un efecto protector de cara al eventual desarrollo posterior de una fibrosis pulmonar; por el contrario, un recuento relativamente elevado de linfocitos T- CD_4 , especialmente en la fase crónica, podría estar implicado en el desarrollo de ésta^{85,86}.

Se ha descrito en la literatura que un porcentaje de linfocitos $> 60\%$ acompañado de un porcentaje de macrófagos $> 1\%$ es diagnóstico de NH⁸⁷, puesto que la presencia de macrófagos aumenta rápidamente tras la exposición antigénica y disminuye entre 1 y 3 meses después. Durante la fase aguda post-exposición (especialmente durante las primeras 48 horas) es frecuente también encontrar neutrofilia⁸⁸; esta misma situación se puede producir también cuando la enfermedad progresa hacia una fibrosis pulmonar⁸⁹. Junto a todo lo descrito, y debido precisamente a esta compartimentalización de la respuesta inmune durante la fase aguda en el pulmón (incremento de leucocitos en dicho órgano), también es característico encontrar una linfopenia periférica porcentual en estos pacientes⁹⁰ (al igual que también sucede en la sarcoidosis)⁹¹.

Los datos obtenidos de los recuentos celulares de los LBA practicados a nuestros pacientes (ver tabla 10) reflejan la presencia de linfocitosis $\geq 20\%$ en un 75%, 66% y 83% de los pacientes con espartosis²⁰, suberosis¹⁹ y PCA¹³, respectivamente; en la serie de PCA también se determinó el ratio CD_4/CD_8 en 13 pacientes, evidenciándose un valor < 1 en 8 (62%) de ellos. Así mismo, se evidenció una linfopenia periférica global bastante frecuentemente en los pacientes en los que se dispuso de hemograma: valor medio de linfocitos del 18% en la espartosis (n=11), valor $\leq 30\%$ en 4 (57%) de 7 pacientes con suberosis y valor $\leq 20\%$ en 15 (23%) de 64 pacientes con PCA. En conclusión, creemos que el LBA es una prueba de gran utilidad en el proceso diagnóstico de la enfermedad, especialmente si se obtiene en la fase aguda de la misma, tras una reciente exposición antigénica, y cuyos resultados

deberían siempre interpretarse en función del momento evolutivo de la enfermedad en que se obtiene. Es cierto que en pocas ocasiones la prueba resulta totalmente diagnóstica⁸⁷, y también que individuos expuestos asintomáticos pueden presentar una linfocitosis en el LBA⁹² que no implica el desarrollo futuro de la enfermedad⁹³, pero muy frecuentemente sus resultados pueden ser muy orientativos en el contexto de una sospecha clínica elevada y de resultados compatibles con NH en otras exploraciones (determinación de anticuerpos IgG específicos, TC torácica, ...). Además, el LBA se obtiene mediante la realización de una broncofibroscopia, técnica mediante la cual también se puede obtener una BTB en un mismo tiempo, con lo que se rentabiliza al máximo la exploración diagnóstica.

TABLA 10
Recuento celular del LBA* en las 3 formas de NH

	ESPARTOSIS (n=8)	SUBEROSIS (n=6)	PCA (n=36)
Porcentaje de linfocitos \geq 20%	6 (75%)	4 (66%) ¹	30 (83%) ²
Ratio CD₄/CD₈ < 1	ND*	ND*	8/13 (62%)
Porcentaje de polimorfonucleares \geq 4%	ND*	ND*	26 (72%) ³

* LBA: lavado broncoalveolar / ND: información no disponible.

¹ En uno de los dos pacientes que no presentaron linfocitosis se obtuvo el LBA tras un periodo prolongado sin exposición antigénica.

² Demostración de la presencia de linfocitosis en el LBA en función de la fase de la enfermedad en la que se obtuvo éste: aguda: 7/10 (70%), subaguda: 17/19 (89%), crónica: 6/7 (85%).

³ Demostración de la presencia de neutrofilia en el LBA en función de la fase de la enfermedad en la que se obtuvo éste: aguda: 6/10 (60%), subaguda: 15/19 (79%), crónica: 5/7 (71%).

11. Biopsia transbronquial (BTB):

Precisamente, en relación con la histopatología característica de las NH, la tríada de hallazgos aceptada como consistente con una NH, aunque no patogneumónica⁹⁴, es la siguiente: infiltrado linfo-histiocitario, bronquiolitis obliterante y granulomas no necrotizantes pobremente formados, siendo aún más sugestiva si estos hallazgos presentan una distribución bronquiocéntrica^{95,96}. En nuestra experiencia presente (ver tabla 11) con la BTB, hemos podido comprobar que la tríada completa se demuestra muy excepcionalmente (en ningún caso de espartosis o suberosis, y tan sólo en un 9% de los pacientes con PCA en los que se practicó una BTB) pero que, en cambio, es muy frecuente encontrar un infiltrado linfo-histiocitario en las 3 formas de NH (77%, 100% y 67%,

respectivamente). El hecho de que se pudiera evidenciar dicha tríada en el 100% de los pacientes con PCA en fase crónica sugiere un mayor rendimiento de la prueba en fases avanzadas de la enfermedad, pero no pueden extraerse conclusiones definitivas de ello, al tratarse de un número tan bajo de casos (n=3).

En cualquier caso, un aspecto crucial en la rentabilidad de esta prueba es la calidad de las biopsias obtenidas, siendo necesarias 5 o 6 muestras que incluyan parénquima pulmonar para poder establecer un diagnóstico preciso en un porcentaje más elevado de casos⁹⁷. En definitiva, en nuestra experiencia, la BTB raramente nos permite confirmar una NH, pero muy frecuentemente los hallazgos consistentes evidenciados elevan su sospecha y obligan a la realización de más exploraciones antes de desestimar dicho diagnóstico.

TABLA 11
Hallazgos histopatológicos en la BTB* y la BPQ* en las 3 formas de NH

	ESPARTOSIS	SUBEROSIS	PCA
	BTB (n=9)	BTB (n=5)	BTB ¹ / (n=33) / BPQ ² (n=14)
Infiltrado linfo-histiocitario (alveolitis linfocitaria)	7 (77.7%)	5 (100%)	22 (67%) / 12 (86%)
Bronquiolitis obliterante	--	--	6 (18%) / 10 (71%)
Granulomas pobremente formados	3 (33%) ³	--	7 (21%) / 10 (71%)

* BTB: biopsia transbronquial / BPQ: biopsia pulmonar quirúrgica.

¹ Número de pacientes con PCA en los que se evidenciaron 1, 2 ó 3 de los hallazgos en la BTB:
1 en 14 (42%) pacientes, 2 en 6 (18%) pacientes, 3 en 3 (9%) pacientes.

² Número de pacientes con PCA en los que se evidenciaron 1, 2 ó 3 de los hallazgos en la BPQ:
1 en 3 (21%) pacientes, 2 en 4 (29%) pacientes, 3 en 7 (50%) pacientes.

³ Se describió la presencia concomitante de macrófagos/histiocitos espumosos en los 3 pacientes.

12. Biopsia pulmonar quirúrgica (BPQ):

La histopatología característica evidenciada en las BPQ de los pacientes con NH puede agruparse en dos categorías^{98,99}. En pacientes en la fase subaguda de la enfermedad el hallazgo predominante es la presencia de un infiltrado linfo-plasmocitario intersticial que siempre se acompaña de un cierto grado de bronquiolitis crónica; en las zonas próximas a los bronquiolos pueden observarse células gigantes multinucleadas; el hallazgo crucial para el diagnóstico (y que las distingue de una NINE) es la presencia de microagregados intersticiales dispersos

de células gigantes multinucleadas mezclados con un número variable de histiocitos espumosos; los granulomas son, en general, menores que los presentes en la sarcoidosis o en infecciones granulomatosas y se encuentran sólo en el intersticio (en la tuberculosis, por ejemplo, pueden estar presentes también en los alveolos); finalmente, áreas parcheadas de neumonía organizada pueden encontrarse en un 60% o más de los casos¹⁰⁰. En pacientes en la fase crónica de la enfermedad los cambios inflamatorios están mayoritariamente enmascarados por fibrosis y los granulomas tienden a estar más centrados en la vía aérea y a encontrarse menos frecuentemente que en la fase subaguda de la enfermedad; la fibrosis suele estar más centrada a nivel peribroncovascular, pero ésto puede resultar difícil de percibir en casos evolucionados de la enfermedad; junto a esta fibrosis, puede encontrarse también un cierto grado de metaplasia peribronquiolar, que en ocasiones puede llegar a ser el hallazgo predominante.

El rendimiento diagnóstico de las piezas histopatológicas conseguidas mediante BPQ en 14 de nuestros pacientes con PCA (9 por toracotomía y 5 por toracoscopia) sí ha sido elevado, evidenciándose la presencia de la tríada de hallazgos completa⁹⁴ en el 50% de los casos (ver tabla 11 previa). De todos modos, es posible que este porcentaje esté incluso infraestimado, teniendo en cuenta que 8 (57%) de los 14 pacientes a los que se practicó BPQ se encontraban en una fase crónica de la enfermedad (ver pie de tabla de BTB y BPQ en serie de PCA)¹³ y que se ha descrito la frecuente ausencia de granulomas en pacientes con fibrosis secundaria a una NH cronificada¹⁰¹.

La utilidad de la BPQ puede evaluarse en función del porcentaje de diagnósticos de certeza alcanzados con ella y también en función de la repercusión que tienen sus hallazgos en el manejo clínico de los pacientes. La rentabilidad diagnóstica de la BPQ se ha demostrado heterogénea en trabajos previos, oscilando entre un 34% y un 100%, y el tratamiento de los pacientes se ha modificado en función de ella entre un 46% y un 75% de los casos¹⁰². Esta heterogeneidad de resultados puede deberse probablemente a múltiples factores, como pueden ser los criterios de selección de los pacientes candidatos a una BPQ, la selección de la zona a biopsiar, la fase de la enfermedad en la que ésta se obtiene o la experiencia del patólogo. La decisión de someter a un paciente a una BPQ debe tomarse, pues, considerando estas variables pero también la morbilidad asociada a ella.

En cualquier caso, como se demuestra en todas las series presentadas aquí, en la gran mayoría de pacientes se puede alcanzar una confirmación diagnóstica y etiológica concluyente cuando pueden realizarse PPBE (62.5%, 100% y 92% entre los pacientes que se sometieron a ellas en nuestras series de espartosis²⁰, suberosis¹⁹ y PCA¹³,

respectivamente). Por este motivo, creemos que no es necesaria la realización sistemática de una BPQ a todos los pacientes con sospecha de NH, como lo demuestra el hecho de que sólo 6 (43%) del total de 14 BPQ realizadas en nuestra serie de pacientes con PCA se indicaron por nuestro servicio. En el punto siguiente se discute el papel de la BPQ en el subgrupo concreto de pacientes con NH que progresan a una fibrosis pulmonar.

13. Potencial progresión de las NH a una fibrosis pulmonar:

El planteamiento descrito en el párrafo anterior es especialmente válido para las formas agudas de NH, en las cuales la relación causal es más fácil de establecer al existir una identificable relación temporal entre una determinada exposición antigénica y los síntomas del paciente. Sin embargo, una revisión de la literatura publicada en los últimos años pone de manifiesto que la situación es más complicada en las formas subagudas y crónicas de las NH; en éstas la clínica es más insidiosa, la relación temporal entre los síntomas y una determinada exposición es menos evidente y el desarrollo de una fibrosis pulmonar puede ser indistinguible al de los hallazgos de una NIU o una NINE en la TC torácica⁵².

Desde que en el año 2002 se demostró por primera vez que los pacientes con NH podían presentar un patrón de NINE como el único hallazgo histológico⁶⁸, se han sucedido en la literatura internacional numerosas publicaciones que demuestran la potencial evolución de las NH hacia diferentes patrones histológicos de fibrosis pulmonar (NIU, NINE celular o fibrótica, NOC o fibrosis intersticial "típica" bronquiocéntrica)^{44,49-53}. A fecha de hoy es bien conocido que la presencia o no de fibrosis en estos pacientes con formas subagudas o crónicas de la enfermedad, que desarrollan alguna forma de neumonitis intersticial, condiciona claramente su pronóstico, siendo mucho mejor en caso de no presentarla (media de supervivencia de 22.4 años)¹⁰³. Si la presentan, se ha descrito que su pronóstico y probabilidad de supervivencia (siendo siempre peor que sin ella) es significativamente diferente dependiendo precisamente del patrón de fibrosis que presentan. Así, dos estudios recientes han descrito los años de supervivencia media¹⁰³ y la tasa de supervivencia¹⁰⁴ en dos series de pacientes con NH (n=24) y con PCA (n=110), respectivamente. Ordenando los patrones de fibrosis de peor a mejor pronóstico, los resultados de estos dos estudios fueron los siguientes: **a)** en el primero¹⁰³, la supervivencia media expresada en años fue de 2.1 en la NINE-fibrótica, de 2.8 en la NIU y de 11.3 en la fibrosis peribronquiolar y **b)** en el segundo estudio¹⁰⁴, la tasa de supervivencia expresada según razón de riesgo (HR) respecto a la supervivencia en pacientes con fibro-

sis bronquiocéntrica fue de 3.4 en la NIU y de 0.23 en la NINE. Una dificultad añadida en el manejo de estos pacientes es que se ha visto que en muchas ocasiones es muy difícil diferenciar entre un patrón de NIU atribuible a una FPI y otro secundario a una NH crónica¹⁰¹.

En estos pacientes con fibrosis secundaria a una NH crónica se han descrito algunos factores de peor pronóstico, independientes del patrón de fibrosis, y que son los siguientes: edad avanzada, desaturación al esfuerzo y ausencia de atrapamiento aéreo/patrón en mosaico en la TAC torácica¹⁰⁵. Finalmente, se ha descrito que una TLC y DLCO reducidas, un bajo porcentaje de linfocitos en el LBA y una histología de NIU son factores predictivos de la aparición futura de exacerbaciones agudas como las que se producen en pacientes con una FPI¹⁰⁶. Así, estas exacerbaciones agudas en pacientes con PCA que progresan hasta una fibrosis pulmonar, se observaron en un 11.5% de pacientes con patrón de NIU (tras seguimiento de 2 años), en un 50% de pacientes con patrón de NINE-fibrótica (tras seguimiento de 11 años) y en ninguno de los pacientes con patrón de NINE-celular¹⁰⁶.

Ante todo ello, parece muy probable que la realización de una BPQ adquiera un papel crucial, en un futuro inmediato, a la hora de diagnosticar las NH en fase de cronicidad, determinar si presentan o no fibrosis, definir el patrón de ésta y adoptar decisiones terapéuticas en función del mismo. De ser así, quizás podrían llevarse a cabo nuevas investigaciones en otros campos, actualmente en estudio, como la eventual utilidad de la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas en tejido pulmonar obtenido por biopsia (utilizando anticuerpos policlonales contra suero de paloma) en la identificación de antígeno de paloma a nivel tisular¹⁰⁷. Probablemente también sería recomendable realizar una BPQ, si el estado clínico del paciente lo permite, en aquellos casos en los que el curso clínico o la respuesta al tratamiento instaurado es inusual.

14. Pruebas de provocación bronquial específicas (PPBE):

Se ha realizado ≥ 1 PPBE en 73 (64%) del total de 114 pacientes incluidos en estos 3 estudios. Ello ha permitido alcanzar un diagnóstico etiológico preciso en 65 (57%) de ellos. El porcentaje de resultados positivos en cada una de las entidades fue el siguiente: en 5/8 (62.5%) pacientes con espartosis²⁰, en 6/6 (100%) pacientes con suberosis¹⁹ y en 54/59 (91.5%) pacientes con PCA¹³. No se produjo ninguna reacción adversa grave en ninguna de las pruebas realizadas, siguiendo un mismo protocolo de forma sistemática y rigurosa.

Considerando la rentabilidad diagnóstica y la demostrada seguridad de esta prueba en las series estudiadas, y ante la cada vez mayor sospecha de un origen plurietiológico de las NH, creemos justificado promover una mayor realización de estas pruebas en centros especializados, la cual permita alcanzar un diagnóstico etiológico concreto en todos los casos de NH. A la vista de los resultados presentados, parece razonable realizar nuevas PPBE frente a diferentes agentes etiológicos que eventualmente puedan estar implicados en la patología concreta de un paciente (según su tipo de exposición de riesgo), cuando la/s prueba/s previas frente al agente etiológico inicialmente sospechado hayan resultado negativas.

En definitiva, pensamos que la extensa experiencia aquí mostrada permite dejar atrás las dudas existentes previamente respecto a la falta de estandarización de los métodos de inhalación, de la preparación de los extractos antigénicos y de los criterios de positividad en estas pruebas, y confirma su elevado rendimiento diagnóstico en el estudio de las diferentes formas de NH. La realización de estas pruebas en centros hospitalarios especializados, siguiendo un protocolo estandarizado, es la opción más segura. Sin embargo, se han descrito alternativas más coste-efectivas como las pruebas de provocación realizadas mediante la reincorporación del paciente a su ambiente doméstico/laboral habitual, al menos durante 10 horas, y tras un periodo de 24 a 72 horas durante el que se ha mantenido alejado de la fuente antigénica sospechada, monitorizando su respuesta espirométrica (FVC), temperatura corporal y síntomas generales¹⁰⁸.

15. Agentes etiológicos en espartosis, suberosis y pulmón del cuidador de aves (PCA):

En cuanto a los agentes etiológicos de la espartosis, la suberosis y el PCA, si bien es cierto que desde hace mucho tiempo y de forma generalizadamente aceptada se han atribuido a la inhalación de *Aspergillus fumigatus*³⁴, *Penicillium frequentans*³⁵ y proteínas séricas de palomas^{62,82,109,110}, respectivamente, también lo es que en algunos trabajos previos se sugiere que otros agentes -fúngicos o no- podrían tener un papel relevante en su etiología. En los trabajos aquí presentados parece corroborarse esta última hipótesis. Así, nuestras series permiten atribuir un rol etiológico a *Penicillium frequentans* en algún caso de espartosis y a *Aspergillus fumigatus* y al corcho no contaminado (suberina) en algún caso de suberosis; también han podido describirse casos de PCA secundarios a la exposición a todo tipo de aves, algunas de ellas no descritas hasta ahora en la literatura,

como palomas, canarios, periquitos, gallinas, loros, cotorras, jilgueros, patos, tortolas, pollos, carolinas, cigüeñas ó codornices.

16. Infradiagnóstico de las NH:

La identificación de estos nuevos agentes etiológicos, junto a la justificada sospecha, sustentada en los resultados descritos, de que algunos otros puedan también jugar un papel importante en el desarrollo de estas enfermedades (tales como *Mucor* sp. o las fibras de esparto no contaminadas en la espartosis), debería ayudar a reducir la tasa de infradiagnóstico -aún excesiva- de estas formas de NH. Con los conocimientos actuales, pensamos que ante la obtención de resultados negativos en las pruebas inmunológicas o de provocación bronquial iniciales, deberían valorarse siempre otros posibles agentes etiológicos antes de excluir el diagnóstico de NH. De hecho, con posterioridad a la publicación de nuestras series de pacientes, se ha descrito un caso de espartosis¹¹¹ y otro de suberosis¹¹² (éste por nuestro grupo) cuya etiología se atribuyó en ambos casos a la exposición a *Mucor* sp, hongo al que no se ha atribuido clásicamente esta enfermedad.

17. Exposición a plumas como causa etiológica del pulmón del cuidador de aves (PCA):

Las características de algunos de los casos incluidos en la serie de 86 pacientes con PCA permiten concluir, al igual que se ha hecho en algunos otros trabajos previamente publicados, que la exposición continuada o intermitente a edredones o almohadas de plumas puede ser la causa inicial del desarrollo de esta enfermedad en algunos pacientes (como se ha descrito recientemente en un trabajador de una fábrica de almohadas¹¹³) o bien ser, en otros, el factor desencadenante de una recidiva en pacientes previamente diagnosticados de PCA¹¹⁴. De hecho, a causa del progresivo incremento de casos publicados como los aquí comentados, algún autor ha planteado últimamente la posibilidad de diferenciar al PCA del subgrupo de pacientes que presentan lo que se conoce como “pulmón de la almohada de plumas” (en inglés, “feather duvet lung”), mediante la determinación del ratio existente entre el nivel sérico de anticuerpos IgG específicos que presentan los pacientes frente a las plumas de ganso y frente a los antígenos de periquito¹¹⁵.

18. Diagnóstico en edad pediátrica del pulmón del cuidador de aves (PCA):

Si bien el diagnóstico de PCA es bastante infrecuente en niños, éste no es excepcional^{116,117} y nuevos casos van siendo sucesivamente publicados en la literatura¹¹⁸. De hecho, en una muy reciente publicación¹¹⁹ se pone de manifiesto que la incidencia y la prevalencia puntual de NH entre los niños de Dinamarca fueron de 2/año y de 4/1.000.000, respectivamente.

Por tanto, siendo ya bien reconocido que mantener un elevado índice de sospecha es primordial para un diagnóstico precoz de esta enfermedad en adultos¹²⁰, y considerando la potencial naturaleza crónica y progresiva de esta enfermedad, éste aspecto se convierte aún en más trascendental en niños con síntomas respiratorios o episodios repetidos de fiebre que tengan contacto con algún tipo de pájaro o ave, o bien una exposición continuada o intermitente a edredones o almohadas de plumas.

CONCLUSIONES

1. Proceso diagnóstico de las NH:

- a) El seguimiento de un protocolo diagnóstico racional y sistemático permite alcanzar un diagnóstico etiológico preciso en la gran mayoría de casos de NH.
- b) Las NH pueden cursar con diferentes tipos de trastornos ventilatorios y funcionales (obstrucción, restricción, enfisema, fibrosis, atrapamiento aéreo, alteración de la difusión pulmonar -en ocasiones aislada-, .. etc) y, por ello, su estudio debe incluir unas pruebas funcionales respiratorias completas (espirometría, volúmenes y difusión pulmonar).
- c) La TC torácica (preferiblemente TCAR) es ya una exploración complementaria imprescindible en el diagnóstico de estos pacientes, especialmente en las fases subagudas y crónicas de la enfermedad, dadas las implicaciones pronósticas de sus hallazgos.
- d) A la vista del evidenciado origen plurietiológico de las distintas formas de NH, y de la demostrada seguridad de las PPBE, se debería promover una mayor realización de estas pruebas en centros especializados, que permita alcanzar un diagnóstico etiológico concreto en todos los casos de NH en los que la situación funcional del paciente permita su realización.
- e) La biopsia pulmonar quirúrgica es infrecuentemente necesaria para alcanzar la confirmación diagnóstica de las NH pero, debido a las implicaciones terapéuticas y pronósticas de sus resultados, sí puede adquirir un papel crucial en aquellos pocos casos de NH que desarrollan un patrón de fibrosis pulmonar no bien definido por la TCAR torácica, especialmente si su curso clínico o su respuesta al tratamiento instaurado es inusual.

2. Retraso diagnóstico en las NH:

- a) El retraso diagnóstico sigue siendo excesivo en las diferentes formas de NH, y comporta un peor pronóstico de éstas.
- b) A la vista de ello, deberían establecerse estrategias educativas que promovieran un mayor conocimiento de estas enfermedades entre los médicos, los trabajadores con riesgo de desarrollarlas y los responsables de las empresas donde éstos últimos trabajan.

3. Manifestaciones clínicas y pronóstico de las NH:

- a) Las manifestaciones clínicas de la espartosis, la suberosis y el PCA son bastante similares, aunque hemos identificado, sin embargo, diferencias en la forma de presentación clínica más frecuente, en la fase de la enfermedad en la cual más frecuentemente se diagnostican y en su potencial progresión a estadios más graves de la enfermedad.
- b) Los pacientes con PCA parecen ser los que se diagnostican más tardíamente en nuestro ámbito y los que progresan, probablemente por este motivo, a estadios más graves de la enfermedad.
- c) Las NH pueden progresar, sobre todo en aquellos casos con mayor retraso diagnóstico y exposición antigénica continuada, hacia una fibrosis pulmonar de pronóstico variable (potencialmente muy grave) ó, menos frecuentemente, hacia una enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

4. Etiología de las NH:

- a) Nuevos agentes etiológicos han sido identificados en las 3 entidades estudiadas.
- b) En la etiología de la espartosis y la suberosis pueden desempeñar un papel importante no sólo uno sino diferentes hongos que pueden contaminar el esparto y el corcho durante sus complejos procesos de preparación. En los trabajos aquí presentados se ha podido demostrar el rol etiológico tanto de *Aspergillus fumigatus* como de *Penicillium frequentans* en ambas entidades y el del corcho no contaminado (suberina) en la suberosis. También aportamos datos no concluyentes que sugieren que las propias fibras de esparto no contaminadas podrían ser la causa de algún caso de espartosis.

- c) En cuanto al PCA, se ha puesto de manifiesto que puede desarrollarse no sólo debido a la exposición a una gran variedad de aves, sino también a causa de una exposición continuada o intermitente a edredones o almohadas de plumas (ésta última puede actuar también como factor desencadenante de una recidiva en pacientes ya afectados de la enfermedad). Por este motivo, ante el creciente número de publicaciones que describen casos de PCA en niños, y considerando la potencial naturaleza crónica y progresiva de esta enfermedad, es particularmente necesario mantener un elevado nivel de sospecha respecto a esta forma de NH en niños con síntomas respiratorios o episodios repetidos de fiebre que tengan contacto con algún tipo de pájaro, ave o edredón/almohada de plumas.

BIBLIOGRAFÍA

Se destacan en *cursiva* las publicaciones incluídas en esta tesis doctoral.

1. Newman-Taylor A. Extrinsic allergic alveolitis. En: Brewis RAL, Gibson GJ, Geddes DM, eds. Respiratory Medicine. London, UK: Bailliere Tindall; 1990; 1104.
2. Terho EO, Husman K, Vohlonen I. Prevalence and incidence of chronic bronchitis and farmer's lung with respect to age, sex, atopy, and smoking. Eur J Respir Dis Suppl 1987; 152: 19-28.
3. Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung diseases. Am J Respir Crit Care Med 1994; 150: 967-72.
4. Xaubet A, Ancochea J, Morell F, Rodriguez-Arias JM, Villena V, Blanquer R, Montero C, Sueiro A, Disdier C, Vendrell M; Spanish Group on Interstitial Lung Diseases, SEPAR. Report on the incidence of interstitial lung diseases in Spain. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 2004; 21: 64-70.
5. Morell F, Reyes L, Domenech G, Ferrer J, De Gracia J, Majó J. Diagnosis and procedures in 500 consecutive patients with clinical suspicion of interstitial lung disease. Arch Bronchoneumol 2008; 44: 185-91.
6. Hanley A, Hubbard RB, Navaratnam V. Mortality trends in asbestosis, extrinsic allergic alveolitis and sarcoidosis in England and Wales. Respir Med 2011; 105: 1373-9.
7. Fenclová Z, Pelclová D, Urban P, Navrátil T, Klusáckova P, Lebedová J. Occupational hypersensitivity pneumonitis reported to the Czech National Registry of Occupational Diseases in the period 1992-2005. Ind Health 2009; 47: 443-8.
8. Arya A, Roychoudhury K, Bredin CP. Farmer's lung is now in decline. Ir Med J 2006; 99: 203-5.
9. Hanak V, Golbin JM, Ryu JH. Causes and presenting features in 85 consecutive patients with hypersensitivity pneumonitis. Mayo Clin Proc 2007; 82: 812-6.
10. Ping Wang, Zuo-jun Xu, Wen-bing Xu, Ju-hong Shi, Xin-lun Tian, Rui-e Feng, Yuan-jue Zhu. Clinical features and prognosis in 21 patients with extrinsic allergic alveolitis. Chin Med Sci J 2009; 24: 202-7.
11. Bourke SJ, Carter R, Anderson K, Boyd J, King S, Douglas B, Boyd G. Obstructive airways disease in non-smoking subjects with pigeon fancier's lung. Clin Exp Allergy 1989; 19: 629-32.

12. Craig TJ, Hershey J, Engler RJ, Davis W, Carpenter GB, Salata K. Bird antigen persistence in the home after removal of the bird. *Ann Allergy* 1992; 69: 510-2.
13. Morell F, Roger À, Reyes L, Cruz MJ, Murio C, Muñoz X. Bird fancier's lung: a series of 86 patients. *Medicine* 2008; 87: 110-30.
14. Hendrick DJ, Faux JA, Marshall R. Budgerigar-fancier's lung: the commonest variety of allergic alveolitis in Britain. *Br Med J* 1978; 2: 81-4.
15. Mármol Rodríguez A, Conejero Ramos A, Jiménez Romero, et al. Estudio de la incidencia de suberosis en trabajadores del corcho de la provincia de Sevilla. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1980; 7: 400-6.
16. Ruíz Manzano J, Valdés M, León MA, et al. Suberosis: alveolitis alérgica extrínseca en un trabajador del corcho. *Med Clin (Barc)* 1984; 82: 265-6.
17. Moral AJ, Arias J, García MA, et al. Alveolitis alérgica extrínseca por *Penicillium frequentans*: revisión y presentación de un caso. *Arch Bronconeumol* 1994; 30: 462-4.
18. Avila R. Some aspects of suberosis: respiratory disease in cork workers (In French). *Bronches* 1974; 22: 121-8.
19. Morell F, Roger À, Cruz MJ, Rodrigo MJ. Suberosis: clinical study and new etiologic agents in a series of eight patients. *Chest* 2003; 124: 1145-52.
20. Cruz MJ, Morell F, Roger À, Muñoz X, Rodrigo MJ. Neumonitis por hipersensibilidad en los yeseros de la construcción (espartosis): estudio de 20 casos. *Med Clin (Barc)* 2003; 120 (15): 578-83.
21. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, Dalphin JC, Ando M, Morell F, Erkinjuntti-Pekkanen R, Muller N, Colby TV, Schuyler M, Cormier Y; HP Study Group. Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 952-8.
22. Cormier Y, Schuyler M. Hypersensitivity pneumonitis and organic dust toxic syndromes. Asthma and the workplace. New York: Marcel Dekker, 2006.
23. Richerson HB, Bernstein IL, Fink JN, Hunninghake GW, Novey HS, Reed CE et al. Guidelines for the clinical evaluation of hypersensitivity pneumonitis. *J Allergy Immunol* 1989; 84: 839-44.
24. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, Dalphin JC, Morell F, Erkinjuntti-Pekkanen R, Mueller NL, Colby TV, Schuyler

- M, Jomphe V, Cormier Y; HP Study Group. Classification of hypersensitivity pneumonitis : an hypothesis. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 149: 161-6.
25. Morell F. Neumonitis por hipersensibilidad. En: *Guía Pneumológica. Pautas, exploraciones complementarias y datos en medicina respiratoria*. 9ª edición. Editorial Ergon. Barcelona, Enero 2012.
26. Sogo A, Morell F, Muñoz X. Hypersensitivity pneumonitis associated with the use of a steam iron. *Arch Bronconeumol* 2009; 45: 258-9.
27. Hamguchi R, Saito H, Kegasawa K, Nakagawa A, Ryujin Y, Noguchi S, Sugimoto H, Kobayashi A, Yamazaki K, Jin Y, Yoshimura N, Tsurikisawa N, Akiyama K. A case of hypersensitivity pneumonitis resulting from inhalation of *Aspergillus niger* in a greenhouse worker who raised roses. *Nihon Kokyuki gakkai Zasshi* 2009; 47: 205-11.
28. Van Heemst RC, Sander I, Rooyackers J, De Jong L, Djamin RS, Aerts JG, Belderbos HN. Hypersensitivity pneumonitis caused by occupational exposure to phytase. *Eur Respir J* 2009; 33: 1507-9.
29. Serrano C, Torrego A, Loosli A, Valero A, Picado C. Hypersensitivity pneumonitis after exposure to *Candida* spp. *Arch Bronconeumol* 2010; 46: 275-7.
30. Morell F, Cruz MJ, Gómez FP, Rodríguez-Jerez F, Xaubet A, Muñoz X. Chacinero's lung - hypersensitivity pneumonitis due to dry sausage dust. *Scand J Work Environ Health* 2011; 37: 349-56.
31. Borderías L, Morell F, Vera J, Briz H, Muñoz X, Cruz MJ. Starling-induced hypersensitivity pneumonitis: minimal but persistent antigen exposure. *Arch Bronconeumol* 2010; 46: 607-9.
32. Metzger F, Haccuria A, Reboux G, Nolard N, Dalphin JC, De Vuyst P. Hypersensitivity pneumonitis due to molds in a saxophone player. *Chest* 2010; 138: 724-6.
33. Toribio R, Cruz MJ, Morell F, Muñoz X. Hypersensitivity pneumonitis related to medium-density fiberboard. *Arch Bronconeumol* 2012; 48: 29-31.
34. Quirce S, Hinojosa M, Blanco R, Cespon C, Yoldi M. *Aspergillus fumigatus* is the causative agent of hypersensitivity pneumonitis caused by esparto dust. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 147-8.
35. Avila R, Lacey J. The role of *Penicillium frequentans* in suberosis (respiratory disease in workers in the cork industry). *Clin Allergy* 1974; 4: 109-17.

36. Baldwin CI, Stevens B, Connors S, Todd A, Bourke SJ, Calvert JE, Allen A. Pigeon fancier's lung: the mucin antigen is present in pigeon droppings and pigeon bloom. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 117: 187-93.
37. Goudswaard J, Noordzij A, Stam JWE. Pigeon IgA. A major antigen in pigeon breeders disease. *Immunol Comm* 1978; 7: 661-68.
38. Longbottom JL. Pigeon breeder's disease: quantitative immunoelectrophoretic studies of pigeon bloom antigen. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 619-24.
39. McSharry C, Anderson K, Boyd G. A review of antigen diversity causing lung disease among pigeon breeders. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1221-9.
40. Gamboa PM, Urbaneja F, Olaizola I, Boyra JA, González G, Antépara I, Urrutia I, Jáuregui I, Sanz ML. Specific IgG to *Thermoactinomyces vulgaris*, *Mycropolyspora faeni* and *Aspergillus fumigatus* in building workers exposed to esparto grass (plasterers) and in patients with esparto-induced hypersensitivity pneumonitis. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2005; 15: 17-21.
41. Hinojosa M, Fraj J, De la Hoz B, Alcazar R, Sueiro A. Hypersensitivity pneumonitis in workers exposed to esparto grass (*Stipa tenacissima*) fibers. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98: 985-90.
42. Morell F, Gómez F, Uresandi F, González Á, Suárez I, Rodrigo MJ. Espartosis: un nuevo tipo de alveolitis alérgica extrínseca en los escayolistas de la construcción. *Med Clin (Barc)* 1995; 105: 19-23.
43. Winck JC, Delgado L, Murta R, Lopez M, Marques JA. Antigen characterization of major cork moulds in suberosis (cork worker's pneumonitis) by immunoblotting. *Allergy* 2004; 59: 739-45.
44. Fenton ME, Cockcroft DW, Wright JL, Churg A. Hypersensitivity pneumonitis as a cause of airway-centered interstitial fibrosis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 99: 465-6.
45. Koschel D, Wittstruck H, Renck T, Muller-Wening D, Hoffken G. Presenting features of feather duvet lung. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152: 264-70.
46. Schuyler M, Cormier Y. The diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 1997; 111: 534-6.
47. Patel AM, Ryu JH, Reed CE. Hypersensitivity pneumonitis: current concepts and future questions. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 661-70.

48. De Gracia J, Morell F, Bofill JM, Curull V, Orriols R. Time of exposure as a prognostic factor in avian hypersensitivity pneumonitis. *Respir Med* 1989; 83: 139-43.
49. Silva CI, Churg A, Müller NL. Hypersensitivity pneumonitis: spectrum of high-resolution CT and pathologic findings. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 188: 334-44.
50. Churg A, Muller NL, Flint J, Wright JL. Chronic hypersensitivity pneumonitis. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 201-8.
51. Jacobs RL. Hypersensitivity pneumonia: UIP/IPF histopathologic presentation. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 532-3.
52. Ohtani Y, Saiki S, Kitaichi M, Usui Y, Inase N, Costabel U, Yoshizawa Y. Chronic bird fancier's lung: histopathological and clinical correlation. An application of the 2002 ATS/ERS consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Thorax* 2005; 60: 665-71.
53. Travis WD, King Jr TE. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 277-304.
54. Lynch DA, Newell JD, Logan PM, King TE Jr, Muller NL. Can CT distinguish hypersensitivity pneumonitis from idiopathic pulmonary fibrosis? *Am J Roentgenol* 1995; 165: 807-11.
55. Zompatori M, Calabro E, Chetta A, Chiari G, Marangio E, Olivieri D. Chronic hypersensitivity pneumonitis or idiopathic pulmonary fibrosis? Diagnostic role of high resolution computed tomography (HRCT). *Radiol Med (Torino)* 2003; 106: 135-46.
56. Baldwin CI, Todd A, Bourke SJ, Allen A, Calvert JE. Pigeon fancier's lung: effects of smoking on serum and salivary antibody responses to pigeon antigens. *Clin Exp Immunol* 1998; 113: 166-72.
57. Pelikan Z, Pelikan-Filipek M. A new disease: a nasal form of pigeon breeder's disease. *Allergy* 1983; 38: 309-18.
58. Sansores R, Salas J, Chapela R, Barquin N, Selman M. Clubbing in hypersensitivity pneumonitis. Its prevalence and possible prognostic role. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1849-51.
59. Dantín J, Cerra J, Comba G. Estudio epidemiológico, clínico y funcional respiratorio del trabajo del esparto. *Med Empr* 1969; 2: 94-105.
60. Dantín J. La elaboración de las fibras vegetales como actividad rural en España. *Med Seg Trab* 1975; 91: 13-25.

61. Jiménez G, López E, Lahoz F, Ramirez J, Ales JM. Asma y fibrosis: consideraciones sobre enfermos del cáñamo y esparto. *Rev Clin Esp* 1966; 3: 182-8.
62. Morais A, Winck JC, Delgado L, Palmares NC, Fonseca J, Moura e Sa J, Marques JA. Suberosis and bird fancier's disease: a comparative study of radiological, functional and bronchoalveolar lavage profiles. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004; 14: 26-33.
63. Pérez-Padilla R, Salas J, Chapela R, Sánchez M, Carrillo G, Pérez R, Sansores R, Gaxiola M, Selman M. Mortality in Mexican patients with chronic pigeon breeder's lung compared with those with usual interstitial pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 49-53.
64. Hartman TE. The HRCT features of extrinsic allergic alveolitis. *Semin Respir Crit Care Med* 2003; 24: 419-26.
65. Glazer CS, Rose CS, Lynch DA. Clinical and radiologic manifestations of hypersensitivity pneumonitis. *J Thorac Imaging* 2002; 17: 261-72.
66. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165 (2): 277-304.
67. Silva CI, Müller NL, Lynch DA, Curran-Everett D, Brown KK, Lee KS, Chung MP. Chronic hypersensitivity pneumonitis: differentiation from idiopathic pulmonary fibrosis and nonspecific interstitial pneumonia by using thin-section CT. *Radiology* 2008; 246: 288-97.
68. Vourlekis JS, Schwarz MI, Cool D, et al. Nonspecific interstitial pneumonitis as the sole histologic expression of hypersensitivity pneumonitis. *Am J Med* 2002; 112: 490-3.
69. Sahin H, Brown KK, Curran-Everett D, Hale V, Cool D, Vourlekis JS, Lynch DA. Chronic hypersensitivity pneumonitis: CT features comparison with pathologic evidence of fibrosis and survival. *Radiology* 2007; 244: 591-8.
70. Hanak V, Golbin JM, Hartman TE, Ryu JH. High resolution CT findings of parenchymal fibrosis correlate with prognosis in hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2008; 134: 133-8.
71. Cormier Y, Brown M, Worthy S, Racine G, Muller NL. High resolution computed tomographic characteristics in acute farmer's lung and in its follow-up. *Eur Respir J* 2000; 16: 56-60.

72. Erkinjuntti-Pekkanen R, Rytönen H, Kokkarinen JI, Tukiainen HC, Partanen K, Terho EO. Long-term risk of emphysema in patients with farmer's lung matched control farmers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 662-5.
73. Remy-Jardin M, Remy J, Wallaert B, Muller NL. Subacute and chronic bird breeder hypersensitivity pneumonitis: sequential evaluation with CT and correlation with lung function test and bronchoalveolar lavage. *Radiology* 1993; 189: 111-8.
74. Richerson HB, Bernstein IL, Fink JN, Hunninghake GW, Novey HS, Reed CE, Salvaggio JE, Schuyler MR, Schwartz HJ, Stechschulte DJ. Guidelines for the clinical evaluation of hypersensitivity pneumonitis. Report of the Subcommittee on Hypersensitivity Pneumonitis. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 839-44.
75. Lalancette M, Carrier G, Laviolette M, et al. Farmer's lung: long-term outcome and lack of predictive value of bronchoalveolar lavage fibrosing factors. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 216-21.
76. Morell F, Orriols R, Molina C. Usefulness of skin test in farmer's lung. *Chest* 1985; 87: 202-5.
77. Bourke SJ, Carter R, Anderson K, Boyd J, King S, Douglas B, Boyd G. Obstructive airways disease in non-smoking subjects with pigeon fancier's lung. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 629-32.
78. Pepys J. Skin test in diagnosis. In: Gell PGH, Coombs RRA, Lachmann PJ, eds. *Clinical aspects of immunology*. Oxford, UK: Blackwell; 1975; 52.
79. Rodrigo MJ, Benavent MI, Cruz MJ, Rosell M, Murio C, Pascual C, Morell F. Detection of specific antibodies to pigeon serum and bloom antigens by enzyme linked immunosorbent assay in pigeon breeder's disease. *Occup Environ Med* 2000; 57: 159-64.
80. Rodríguez de Castro F, Carrillo T, Castillo R, Blanco C, Díaz F, Cuevas M. Relationships between characteristics of exposure to pigeon antigens. *Chest* 1983; 103: 1059-63.
81. Lacasse A, Selman M, Costabel U, Dalphin JC, Ando M, Morell F, et al. Clinical prediction rule for the diagnosis of active hypersensitivity pneumonitis (HP) : the HP study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168 : 952-8.
82. Morell F, Curull V, Orriols R, De Gracia J. Skin tests in bird breeder's disease. *Thorax* 1986; 41: 538-41.
83. McSharry C, Banham SW, Lynch PP, Boyd G. Skin testing and extrinsic allergic alveolitis. *Clin Exp Immunol* 1983; 54: 282-8.

84. Winterbauer RH, Lammert J, Selland M, Wu R, Corley D, Springmeyer SC. Bronchoalveolar lavage cell populations in the diagnosis of sarcoidosis. *Chest* 1993; 104 (2): 352-61.
85. Murayama J, Yoshizawa Y, Ohtsuka M, Hasegawa S. Lung fibrosis in hypersensitivity pneumonitis. Association with CD4 but not CD8 cell dominant alveolitis and insidious onset. *Chest* 1993; 104: 38-43.
86. Yoshizawa Y, Ohtani Y, Hayakawa H, Sato A, Suga M, Ando M. Chronic hypersensitivity pneumonitis in Japan: a nationwide epidemiologic survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 315-20.
87. Semenzato G, Biermer L, Costabel U, Haslam PL, Olivieri D. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J* 1990; 3: 945-6.
88. Navarro C, Mejia M, Gaxiola M, Mendoza F, Carrillo G, Selman M. Hypersensitivity pneumonitis: a broader perspective. *Treat Respir Med* 2006; 5: 167-79.
89. Pardo A, Barrios R, Gaxiola M, Segura-Valdez L, Carrillo G, Estrada A, Selman M. Increase of lung neutrophils in hypersensitivity pneumonitis associated with lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1698-704.
90. Costabel U, Bross KJ, Ruhle KH, Lohr GW, Matthys H. Ia-like antigens on T-cells and their subpopulations in pulmonary sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis. Analysis of bronchoalveolar and blood lymphocytes. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 337-42.
91. Morell F, Levy G, Orriols R, Ferrer J, De Gracia J, Sampol G. Delayed cutaneous hypersensitivity tests and lymphopenia as activity markers in sarcoidosis. *Chest* 2002; 121: 1239-44.
92. Cormier Y, Belanger J, Laviolette M. Persistent bronchoalveolar lymphocytosis in asymptomatic farmers. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 843-7.
93. Cormier Y, Letourneau L, Racine G. Significance of precipitins and asymptomatic lymphocytic alveolitis: a 20-yr follow-up. *Eur Respir J* 2004; 23: 523-5.
94. Perez-Padilla R, Gaxiola M, Salas J, Mejia M, Ramos C, Selman M. Bronchiolitis in chronic pigeon breeder's disease. Morphologic evidence of a spectrum of small airway lesions in hypersensitivity pneumonitis induced by avian antigens. *Chest* 1996; 110: 371-7.
95. Coleman A, Colby TV. Histologic diagnosis of extrinsic allergic alveolitis. *Am J Surg Pathol* 1988; 2: 514- 8.

96. Myers JL, Tazelaar HD. Challenges in pulmonary fibrosis: 6-Problematic granulomatous lung disease. *Thorax* 2008; 63: 78-84.
97. Descombes E, Gardiol D, Leuenberger P. Transbronchial lung biopsy: an analysis of 530 cases with reference to the number of samples. *Monaldi Arch Chest Dis* 1997; 52: 324-9.
98. Barrios RJ. Hypersensitivity pneumonitis: histopathology. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 199-203.
99. Takemura T, Akashi T, Ohtani Y, Inase N, Yoshizawa Y. Pathology of hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med* 2008; 14: 440-54.
100. Hayakawa H, Shirai M, Sato A, Yoshizawa Y, Todate A, Imokawa S, Suda T, Chida K, Tamura R, Ishihara K, Saiki S, Ando M. Clinicopathological features of chronic hypersensitivity pneumonitis. *Respirology* 2002; 7: 359-64.
101. Akashi T, Takemura T, Ando N, Eishi Y, Kitagawa M, Takizawa T, Koike M, Ohtani Y, Miyazaki Y, Inase N, Yoshizawa Y. Histopathologic analysis of sixteen autopsy cases of chronic hypersensitivity pneumonitis and comparison with idiopathic pulmonary fibrosis/usual interstitial pneumonia. *Am J Clin Pathol* 2009; 131: 405-15.
102. Girard M, Lacasse Y, Cormier Y. Hypersensitivity pneumonitis. *Allergy* 2009; 64: 322-34.
103. Churg A, Sin DD, Everett D, Brown K, Cool C. Pathologic patterns and survival in chronic hypersensitivity pneumonitis. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1765-70.
104. Gaxiola M, Buendía-Roldán I, Mejía M, Carrillo G, Estrada A, Navarro MC, Rojas-Serrano J, Selman M. Morphologic diversity of chronic pigeon breeder's disease: clinical features and survival. *Respir Med* 2011; 105: 608-14.
105. Lima MS, Coletta EN, Ferreira RG, Jasinowodolinski D, Arakaki JS, Rodrigues SC, Rocha NA, Pereira CA. Subacute and chronic hypersensitivity pneumonitis: histopathological patterns and survival. *Respir Med* 2009; 103: 508-15.
106. Miyazaki Y, Tateishi T, Akashi T, Ohtani Y, Inase N, Yoshizawa Y. Clinical predictors and histological appearance of acute exacerbations in chronic hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 2008; 134: 1265-70.
107. León DE, Retana VN, Hernández-Pando R, Arellano J, Ortiz LG, Valle FC, Martínez-Cordero E; Interdisciplinary

group for the study of extrinsic allergic alveolitis. Pigeon hypersensitivity pneumonitis: immunohistochemical demonstration of the causative antigen in the lung. *Prim Care Respir J* 2007; 16: 252-6.

- 108.** Ramirez-Venegas A, Sansores RH, Perez-Padilla R, Carrillo G, Selman M. Utility of a provocation test for diagnosis of chronic pigeon breeder's disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 862-9.
- 109.** McSharry C, Dye GM, Ismail T, Anderson K, Spiers EM, Boyd G. Quantifying serum antibody in bird fancier's hypersensitivity pneumonitis. *BMC Pulm Med* 2006; 6: 16.
- 110.** Metzger WJ, Butler JE, Swanson P, Reinders E, Richerson HB. Amplification of the enzyme-linked immunosorbent assay for measuring allergen-specific IgE and IgG antibody. *Clin Allergy* 1981; 11: 523-31.
- 111.** Antolin DR, Hinojosa M, Huertas B, Pena M, Sanchez G, Alvarez E. Hypersensitivity pneumonitis caused by *Mucor* in a patient handling esparto grass fibers. *Allergy* 2010; 65 (Suppl. 92): 254-5.
- 112.** Villar A, Muñoz X, Cruz MJ, Morell F. Hypersensitivity pneumonitis caused by *Mucor* species in a cork worker. *Arch Bronconeumol* 2009; 45: 405-7.
- 113.** Nishikawa E, Taooka Y, Tsubata Y, Ohe M, Kanda H, Isobe T. A case of acute hypersensitivity pneumonitis in a worker at a feather duvet factory. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2011; 49: 93-6.
- 114.** Harada T, Watanabe E, Touge H, Tokuyasu H, Kawasaki Y, Isowa N. A relapse of acute bird-related hypersensitivity pneumonitis due to the use of a feather duvet by a housemate. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2010; 48: 328-32.
- 115.** Koschel D, Lützkendorf L, Wiedemann B, Höffken G. Antigen-specific IgG antibodies in feather duvet lung. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 797-802.
- 116.** Cobos N, Canals J, Liñán S, Evangelista A, Isturiz G, Barquet N. Pulmón del cuidador de pájaros en la infancia. *Allergol et Immunopathol* 1980; VIII: 637-42.
- 117.** Venkatesh P, Wild L. Hypersensitivity pneumonitis in children: clinical features, diagnosis and treatment. *Paediatr Drugs* 2005; 7: 235-44.
- 118.** Vizmanos G, Estrada J, Medina M, Muñoz X, Aísa E, Monzón M, Carranza M, Casal J. Pigeon breeder's lung. *An Pediatr (Barc)* 2009; 70: 362-5.
- 119.** Buchvald F, Petersen BL, Damgaard R, deterring R, Langston C, Fan LL, Deutsch GH, Dishop MK, Kristensen

LA, Nielsen KG. Frequency, treatment, and functional outcome in children with hypersensitivity pneumonitis. *Pediatr Pulmonol* 2011; 46 (11): 1098-107.

120. Chan AL, Juarez MM, Leslie KO, Ismail HA, Albertson TE. Bird fancier's lung: a state of the art review. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2012; 43 (1-2): 69-83.

RESUMEN

ESTUDIOS CLÍNICOS DE NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD: ESPARTOSIS, SUBEROSIS Y PULMÓN DEL CUIDADOR DE AVES

El término de neumonitis por hipersensibilidad (NH) engloba a un grupo de enfermedades producidas por la exposición a diferentes sustancias orgánicas (y por su inhalación), que se caracterizan por la presencia de una reacción inflamatoria, en individuos susceptibles, que tiene lugar a nivel de alveolos, bronquiolos e intersticio pulmonar.

En España, las NH ocupan el 5º lugar en el listado de las enfermedades pulmonares intersticiales más frecuentemente diagnosticadas. Entre ellas, el pulmón del cuidador de aves (PCA) es la entidad más frecuentemente diagnosticada, debido al extendido hábito de tener algún tipo de ave en el domicilio. Otros dos tipos de NH no infrecuentemente diagnosticados son la espartosis, característica de los trabajadores de la construcción que manipulan yeso, y la suberosis, la cual desarrollan los trabajadores que participan en la manufacturación de productos de corcho.

Esta tesis está constituida por 2 exhaustivos trabajos de revisión, retrospectivos, que engloban a 8 y 86 pacientes afectos de suberosis y PCA, respectivamente. Como anexo, se incluye una tercera revisión de 20 pacientes con espartosis.

Algunos aspectos diferenciales de estas publicaciones, respecto a las existentes sobre este campo en la literatura, son los siguientes: **a)** identificación de nuevos agentes etiológicos en las tres entidades estudiadas; **b)** confirmación diagnóstica y etiológica de la mayoría de los casos mediante prueba de provocación bronquial específica (PPBE); **c)** evaluación del rendimiento diagnóstico de todas las exploraciones complementarias utilizadas en el estudio de las NH y **d)** descripción exhaustiva (epidemiología, clínica y resultados de exploraciones complementarias) de la más amplia serie de pacientes con PCA publicada en la bibliografía internacional.

Las conclusiones más destacables que pueden extraerse de estos trabajos son:

1. El seguimiento de un protocolo diagnóstico racional y sistemático permite alcanzar un diagnóstico etiológico preciso en la gran mayoría de casos de NH.
2. Las NH pueden cursar con diferentes tipos de trastornos ventilatorios y funcionales (restricción, obstrucción, atrapamiento aéreo, alteración de la difusión pulmonar; .. etc) y, por ello, su estudio debe incluir siempre unas pruebas funcionales respiratorias completas (espirometria, volúmenes estáticos y difusión pulmonar).
3. La TC torácica (preferiblemente TCAR) es ya una exploración complementaria imprescindible en el diagnóstico de estos pacientes, especialmente en las fases subagudas y crónicas de la enfermedad, dadas las implicaciones pronósticas de sus hallazgos.
4. Ante el evidenciado origen plurietiológico de las distintas NH y la demostrada seguridad de las PPBE, debería promoverse una mayor realización de éstas en centros especializados.
5. La biopsia pulmonar quirúrgica es infrecuentemente necesaria para alcanzar la confirmación diagnóstica de las NH pero, debido a las implicaciones terapéuticas y pronósticas de sus resultados, sí puede adquirir un papel crucial en aquellos pocos casos de NH que desarrollan un patrón de fibrosis pulmonar no bien definido por la TCAR torácica, especialmente si su curso clínico o su respuesta al tratamiento instaurado es inusual.
6. El retraso diagnóstico sigue siendo excesivo en las diferentes formas de NH.
7. Las NH pueden progresar, sobre todo en aquellos casos con mayor retraso diagnóstico y exposición antigénica continuada, hacia una fibrosis pulmonar de pronóstico variable (potencialmente muy grave) ó, menos frecuentemente, hacia una enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). A la vista de ello, deberían establecerse estrategias educativas que promovieran un mayor conocimiento de estas enfermedades entre los médicos, los trabajadores con riesgo de desarrollarlas y los responsables de las empresas en las que éstos últimos trabajan.
8. Nuevos agentes etiológicos han sido identificados en las 3 entidades estudiadas. Se ha demostrado el rol etiológico tanto de *Aspergillus fumigatus* como de *Penicillium frequentans* en la espartosis y la suberosis, el

del corcho no contaminado en la suberosis, datos no concluyentes sugieren que las fibras de esparto no contaminadas podrían ser la causa de algún caso de espartosis y se ha constatado que el PCA puede desarrollarse no sólo debido a la exposición a una gran variedad de aves, sino también a causa de la exposición continuada o intermitente a edredones o almohadas de plumas.

SUMMARY

HYPERSENSITIVITY PNEUMONITIS CLINICAL STUDIES: ESPARTOSIS (STIPATOSIS), SUBEROSIS, AND BIRD FANCIER'S LUNG

The term hypersensitivity pneumonitis (HP) encompasses a group of conditions produced by exposure to, and inhalation of, various organic substances. HP is characterized by an inflammatory reaction in susceptible individuals, occurring in the alveoli, bronchioles, and pulmonary interstitium.

In the list of the most frequently diagnosed interstitial lung diseases in Spain, HP occupies the fifth position. Bird fancier's lung (BFL) is the most common HP because of the extended custom of keeping some type of bird in the home. Other types of HP often diagnosed in our country include espartosis (also known as stipatosis), which characteristically occurs in construction workers who are exposed to esparto fiber when manipulating plaster, and suberosis, which develops in workers who participate in the manufacture of products made of cork.

This thesis consists of two comprehensive retrospective review articles with 8 and 86 patients affected by suberosis and BFL, respectively. In addition, a third review of 20 patients with espartosis is provided.

The following are some of the aspects that differentiate these articles from other reports in the literature on this subject: **a)** identification of new etiologic agents in the three conditions studied, **b)** diagnostic and etiologic confirmation by specific bronchial challenge (SBC) testing in the majority of cases, **c)** evaluation of the diagnostic yield of all the tests used in the study of HP, and **d)** an extensive description (epidemiology, signs and symptoms, and test results) of the largest series of patients with BFL available in the international literature.

Several conclusions extracted from these studies are worthy of note:

1. Use of a rational, systematic diagnostic protocol enables establishment of a precise etiologic diagnosis in the vast majority of HP cases.
2. HP can present with different types of ventilatory and functional abnormalities (eg, restriction, obstruction, air trapping, abnormal lung diffusion); therefore, the study of HP should always include complete respiratory function testing (spirometry, static lung volumes, and diffusion capacity).
3. Chest CT (preferably HRCT) examination has now become essential for diagnosing these patients, particularly in the subacute and chronic phases of the disease, in which the findings have considerable prognostic implications.
4. In light of the multiple causes of the different types of HP and the demonstrated safety of SBC, wider use of this test should be promoted in specialized centers.
5. Open lung biopsy is not often needed to reach a confirmed diagnosis of HP. Nonetheless, because of the therapeutic and prognostic implications of the results, this measure may acquire a crucial role in the small number of HP cases in which the pattern of pulmonary fibrosis is poorly defined on chest HRCT, particularly if the patient has an unusual clinical course or response to treatment.
6. The diagnostic delay remains excessive in the different forms of HP.
7. In patients with HP, this aforementioned diagnostic delay and continuing antigen exposure can lead to the development of pulmonary fibrosis, with a varying but potentially severe prognosis or, less frequently, of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Therefore, educational strategies should be established to provide a better understanding of these conditions among physicians, companies whose workers are at risk of developing them, and among the workers, themselves.
8. New causal agents have been identified in the three conditions studied: an etiologic role has been demonstrated for both *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium frequentans* in espartosis and suberosis; un-

contaminated cork, in itself, also appears to play a role in suberosis; inconclusive data suggest that un-contaminated esparto fibers may cause a small number of espartosis cases; and, in addition to exposure to a large variety of birds, BFL can be caused by continuous or intermittent exposure to feather pillows and quilts.

COMUNICACIONES A CONGRESOS, PUBLICACIONES Y SUBVENCIONES

COMUNICACIONES A CONGRESOS

Se describen aquí, únicamente, las comunicaciones presentadas en congresos que se han elaborado a partir de los resultados más relevantes obtenidos en los trabajos que constituyen esta tesis doctoral.

Nacionales:

- Roger À, Muñoz X, Cruz MJ, Rodrigo MJ, Morell F. Póster con exposición oral: Suberosis: neumonitis por hipersensibilidad por polvo de corcho. Estudio de una serie de 7 pacientes. XXXIII Congreso Nacional SEPAR. Bilbao, Junio 2000.
- Roger À, Cruz MJ, Rodrigo MJ, Morell F. Póster con exposición oral: Cuantificación de la concentración de antígeno ambiental de paloma mediante un método de ELISA de inhibición XXXIV Congreso Nacional SEPAR. A Coruña, Junio 2001.

Internacionales:

- Cruz MJ, Rodrigo MJ, Roger À, Morell F. Thematic poster session: An ELISA-inhibition method for the measurement of airborne pigeon antigens. XX Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Berlin, Mayo 2001.
- Roger À, Cruz MJ, Muñoz X, Rodrigo MJ, Morell F. Thematic poster session: Specific IgG and its subclasses (IgG₁, IgG₂) to pigeon serum and bloom in asymptomatic pigeon fanciers and patients with bird fancier's lung. ATS 97th International Conference. San Francisco, USA, Mayo 2001.
- Roger À, Cruz MJ, Muñoz X, Rodrigo MJ, Morell F. Thematic poster session: Suberosis: hypersensitivity pneumonitis due to cork dust inhalation. Description of 7 patients. ATS 97th International Conference. San Francisco, USA, Mayo 2001.

- Roger À, Cruz MJ, Rodrigo MJ, Morell F. Thematic poster session: Levels of airborne pigeon antigens measured by an ELISA-inhibition method. 11th Annual ERS Congress. Berlin, Septiembre 2001.
- Roger À, Morell F, Cruz MJ, Rodrigo MJ, Muñoz X. Poster discussion: Espartosis: hypersensitivity pneumonitis in construction plasterers. Clinical characteristics and aetiological role of fungi. 12th Annual ERS Congress. Estocolmo, Septiembre 2002.
- Roger À, Cruz MJ, Rodrigo MJ, Morell F. Thematic poster session: Bird fancier's lung: clinical review and long-term follow-up. ATS 99th International Conference. Seattle, USA, Mayo 2003.

PUBLICACIONES

Artículos:

Se destacan en *cursiva* los incluidos en esta tesis doctoral.

- Muñoz X, Roger À, Pallisa E, Martí S, Ferrer J. Ventilatory insufficiency due to asbestos-related diffuse pleural fibrosis successfully treated with non-invasive home mechanical ventilation. *Respiration* 2001; 68: 533-6.
- Roger À, Murio C, Morell F. Tractament farmacològic de l'asma. En: Vidre i Mirall: l'estudi i el control de l'asma. *Annals de Medicina* 2001; 84: 198-202.
- Morell F, Roger À, Cruz MJ. Usefulness of specific skin tests in the diagnosis of hypersensitivity pneumonitis (Correspondence). *J Allergy Clin Immunol* 2002 Dec; 110 (6): 939.
- Cruz MJ, Morell F, Roger À, Muñoz X, Rodrigo MJ. Neumonitis por hipersensibilidad en los yeseros de la construcción (espartosis): estudio de 20 casos. *Medicina Clínica (Barc)* 2003; 120 (15): 578-83.
- Morell F, Roger À, Cruz MJ, Muñoz X, Rodrigo MJ. Suberosis. Clinical study and new etiologic agents in a series of eight patients. *Chest* 2003; 124 (3): 1145-52.
- Orriols R, Costa R, Albanell M, Alberti C, Castejon J, Monso E, Panades R, Rubira N, Zock JP; Malaltia Ocupacional Respiratoria (MOR) Group. Reported occupational respiratory diseases in Catalonia. *Occup Environ Med* 2006; 63 (4): 255-60.

- Morell F, Genover T, Reyes L, Benaque E, Roger À, Ferrer J. La población de asmáticos ambulatorios y su control tras adaptar el tratamiento a las recomendaciones. Arch Bronconeumol 2007; 43 (1): 29-35.
- Muñoz X, Roger À, De la Rosa D, Morell F, Cruz MJ. Occupational vocal cord dysfunction due to exposure to wood dust and xerographic toner. Scand J Work Environ Health 2007; 33 (2): 153-9.
- Morell F, Roger À, Reyes L, Cruz MJ, Murio C, Muñoz X. Bird fancier's lung: a series of 86 patients. Medicine (Baltimore) 2008; 87 (2): 110-30.
- Albareda M, Viguera J, Santivera C, Lozano P, Mestrón A, Bengoa N, Calvet R, Roger À, Pardillo D, Delgado E, Vila LI. Upper airway obstruction in patients with endothoracic goiter enlargement: no relationship between flow-volume loops and radiological tests. Eur J Endocrinol 2010; 163 (4): 665-9.
- Roger À, Vázquez R, Almonacid C, Padilla A, Serrano J, García-Salmones M, Molina F, Pinedo C, Torrejón M, Picado C, López-Viña A, Plaza V. Grado de conocimiento de las propias sensibilizaciones alérgicas en pacientes asmáticos y su repercusión en el nivel de control del asma (Aceptado en Febrero/2013 para publicación en Arch Bronconeumol).

Capítulos de libros:

En: Manual de procedimientos SEPAR (4): Procedimientos de evaluación de la función pulmonar -II- (Publicaciones Permanyer, 2004):

- Roger À, Muñoz X. Pruebas de provocación bronquial específicas.

En: Pneumológica: pautas, datos y técnicas en medicina respiratoria. 8ª edición. Autores: Morell F, et al. Editorial Elsevier-Masson. Barcelona, Noviembre 2007:

- Morell F, Roger À, Lloberes P. Asma bronquial.
- Roger À, Morell F. Rinitis, poliposis nasal y sinusitis aguda.
- Roger À, Morell F, Muñoz X. Bronquitis eosinofílica.
- Muñoz X, Morell F, Roger À. Disfunción de las cuerdas vocales.
- Morell F, Roger À. Pruebas cutáneas específicas en el diagnóstico de las neumonitis por hipersensibilidad.

En: Guía Pneumológica: pautas, exploraciones complementarias y datos en medicina respiratoria. 9ª edición. Autores: Morell F, et al. Editorial Ergon. Barcelona, Enero 2012:

- Morell F, Muñoz X, Lloberes P, Roger À. Asma bronquial.
- Morell F, Roger À. Rinitis, poliposis nasal y sinusitis aguda.
- Muñoz X, Roger À, Morell F. Bronquitis eosinofílica.
- Morell F, Roger À. Pruebas cutáneas específicas en el diagnóstico de las neumonitis por hipersensibilidad.

SUBVENCIONES **(Específicas de esta tesis doctoral)**

La presente tesis doctoral ha sido parcialmente subvencionada por las siguientes becas:

- Red Respira (Instituto de Salud Carlos III). RTYC-03/11.
- FISS 99/0963 (Instituto de Salud Carlos III): Neumonitis por hipersensibilidad. Pulmón del cuidador de aves. Estudio clínico, inmunológico y ambiental.

