

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

T.O.  
L/79

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
SECRETARIA GENERAL



Queda registrada esta Tesis Doctoral  
al tomo 124 número 58 del libro  
correspondiente. 15 OCT. 1990  
Sevilla,

El Jefe del Negociado de Tesis.

*Alena Raffite*

APORTACION AL ESTUDIO DEL ASMA OCUPACIONAL POR SENSIBILIZA-  
CION A ENZIMAS. ASPECTOS CLINICOS, INMUNOLOGICOS Y MODELOS DE  
RESPUESTA BRONQUIAL.

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE

DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGIA POR:

ELOY LOSADA COSMES

DIRECTOR: PROF. DR. D.JOSE CONDE HERNANDEZ

SEVILLA, 1990

**CERTIFICADO**



UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

3

AVDA. DR. FEDRIANI S/N  
SEVILLA

*José Conde Hernández Profesor Titular de Patología General y Propedéutica Clínica de La Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla y Jefe del Servicio Regional de Inmunología y Alergia del Hospital Universitario Virgen Macarena.*

**CERTIFICA:** *Que D. Eloy Losada Cosmes, ha realizado el trabajo "APORTACION AL ESTUDIO DEL ASMA OCUPACIONAL POR SENSIBILIZACION A ENZIMAS. ASPECTOS CLINICOS, INMUNOLOGICOS Y MODELOS DE RESPUESTA BRONQUIAL", bajo su dirección, y que reúne todos los requisitos necesarios, para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral.*

*Y para que conste y surta los efectos oportunos expido el presente, en Sevilla a treinta de Julio de Mil novecientos noventa.*

**DEDICATORIA**

*A vosotros, mi familia,  
razón de mi trabajo.*

**AGRADECIMIENTOS**

## AGRADECIMIENTOS:

*Quiero hacer público mi sincero agradecimiento a todos aquellos que, de una u otra forma, han colaborado en la realización de esta tesis.*

*A nuestros pacientes, que con su colaboración continua, hicieron viable este estudio. Ellos constituyen el objetivo final de este trabajo y son los receptores de nuestro modesto quehacer diario. Gracias a todos.*

*A mis compañeros Médicos del Servicio de Alergia. En muchas ocasiones tuvieron que suplir mi labor asistencial diaria para que pudiera dedicarme a coordinar y transcribir este trabajo. Sería injusto si no hiciera mención especial del Dr. Miguel Hinojosa, compañero de mis incursiones en el mundo laboral. El ha sido quien más ha aportado en la realización de esta tesis.*

*Mi agradecimiento al Dr. Ignacio Moneo, del Servicio de Inmunología, para quien la hipersensibilidad constituye la razón más importante de su trabajo diario. El puso en marcha la metodología "in vitro" que se ha utilizado en este estudio.*

*Gracias a nuestras A.T.S., Srtas. Consuelo, Mercedes y Teresa que han colaborado activamente en el estudio realizado a estos pacientes.*

*Mi sincero agradecimiento a los Laboratorios Bencard y al Dr. Fernando de la Torre, con la colaboración del Prof. Carrasco, por su ayuda inestimable en el estudio estadístico.*

*Finalmente, mi reconocimiento y agradecimiento sincero y entrañable a mi amigo y director de esta tesis, el Prof. José Conde Hernández. Su impulso, en un momento difícil hizo que este camino, que hoy termina, haya podido ser recorrido felizmente.*

*Gracias a todos.*



**INDICE**

## INDICE

DEDICATORIA . . . . .	4
AGRADECIMIENTOS . . . . .	6
INDICE . . . . .	9
JUSTIFICACION DE LA TESIS . . . . .	13
CAPITULO I: INTRODUCCION . . . . .	17
1.- ASMA OCUPACIONAL: CONCEPTO Y DEFINICION . . . . .	18
2.- RECUERDO HISTORICO . . . . .	20
3.- PROBLEMÁTICA ACTUAL DEL ASMA OCUPACIONAL . . . . .	22
4.- FACTORES PREDISONENTES . . . . .	30
- A) ATOPIA . . . . .	31
- B) EXPOSICION . . . . .	31
- C) HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL . . . . .	32
5.- MECANISMOS PATOGENICOS . . . . .	34
- A) INMUNOLOGICOS . . . . .	34
- B) NO INMUNOLOGICOS . . . . .	40
- 1) ACCION FARMACOLOGICA . . . . .	41
- 2) LESION EPITELIAL . . . . .	43
- 3) INFLAMACION BRONQUIAL . . . . .	44
6.- AGENTES ETIOLOGICOS . . . . .	46
- 1) SUSTANCIAS DE ORIGEN ANIMAL . . . . .	46
- 2) SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL . . . . .	46
- 3) SUSTANCIAS DE ORIGEN QUIMICO . . . . .	47
7.- MODELOS DE RESPUESTA BRONQUIAL . . . . .	48
- 1) RESPUESTA INMEDIATA . . . . .	48
- 2) RESPUESTA TARDIA . . . . .	48
- 3) RESPUESTA DUAL . . . . .	49

8.- METODOLOGIA DIAGNOSTICA. . . . .	50
- 1) HISTORIA CLINICA. . . . .	51
- 2) TEST CUTANEOS Y SEROLOGICOS. . . . .	53
- 3) TEST DE FUNCION PULMONAR. . . . .	57
9.- TABLAS, FOTOGRAFIAS Y FIGURAS. . . . .	61
CAPITULO II: MATERIAL Y METODOS. . . . .	81
1.- SELECCION DE PACIENTES. . . . .	82
2.- PREPARACION DEL ANTIGENO. . . . .	84
3.- PROTOCOLO DE TEST CUTANEOS. . . . .	86
4.- TEST IN VITRO. . . . .	87
- A) DETERMINACION DE IgE ESPECIFICA. . . . .	87
- B) DETERMINACION DE IgG ESPECIFICA. . . . .	88
- C) CONTROL DE ESPECIFICIDAD. . . . .	89
5.- PROVOCACIONES INHALATIVAS. . . . .	91
- A) PREPARACION DEL ANTIGENO. . . . .	91
- B) TEST DE PROVOCACION BRONQUIAL. . . . .	91
- C) TEST DE PROVOCACION NASAL. . . . .	92
6.- METODOLOGIA ESTADISTICA E INFORMATICA. . . . .	94
7.- TABLAS, FOTOGRAFIAS Y FIGURAS. . . . .	95
CAPITULO III: RESULTADOS. . . . .	101
1.- ESTADISTICA DESCRIPTIVA. . . . .	110
- 1. CUESTIONARIO CLINICO. . . . .	110
- 2. TEST CUTANEOS. . . . .	113
- 3. TEST IN VITRO. . . . .	114
- A) IgE ESPECIFICA. . . . .	114
- B) IgG ESPECIFICA. . . . .	116
- C) REACTIVIDAD CRUZADA. . . . .	117
- 4. TEST DE PROVOCACION INHALATIVA. . . . .	118

II. ESTADISTICA ANALITICA. . . . .	122
- 1. CUESTIONARIO CLINICO. . . . .	123
- A) SINTOMATOLOGIA CLINICA-EXPOSICION. . . . .	123
- B) SINTOMATOLOGIA CLINICA-ANTECEDENTES. . . . .	123
- C) SINTOMATOLOGIA CLINICA-TEST CUTANEOS. . . . .	124
- 2. TEST CUTANEOS. . . . .	126
- A) TEST CUTANEOS-ANTECEDENTES. . . . .	126
- B) TEST CUTANEOS-EXPOSICION. . . . .	127
- C) TEST CUTANEOS-SINTOMATOLOGIA. . . . .	127
- 3. TEST IN VITRO. . . . .	129
- A) IgE ESPECIFICA. . . . .	129
- a) IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS. . . . .	129
- b) IgE ESPECIFICA-SINTOMATOLOGIA. . . . .	129
- B) IgG ESPECIFICA. . . . .	130
- a) IgG ESPECIFICA-TEST CUTANEOS. . . . .	130
- b) IgG ESPECIFICA-EXPOSICION. . . . .	130
- c) IgG ESPECIFICA-SINTOMATOLOGIA. . . . .	131
- 4. PROVOCACIONES INHALATIVAS. . . . .	132
- A) PROVOCACIONES INHALATIVAS-TEST CUTANEOS. . . . .	132
- B) PROV. INHALATIVAS-IgE ESPECIFICA. . . . .	134
- C) PROV. INH. - CLINICA-TEST CUTANEOS. . . . .	136
- 5. TABLAS, FOTOGRAFIAS Y FIGURAS. . . . .	137
CAPITULO IV: DISCUSION. . . . .	216
CAPITULO V: RESUMEN. . . . .	238
CAPITULO VI: CONCLUSIONES. . . . .	242
CAPITULO VII: BIBLIOGRAFIA. . . . .	247

**JUSTIFICACION DE LA TESIS**

## JUSTIFICACION DE LA TESIS

*Desde que se describieron los primeros casos de asma bronquial en relación con el trabajo por Ramazzini, en el siglo XVIII, la importancia de ésta patología se ha ido incrementando hasta el punto de constituir actualmente un problema social y médico de considerable magnitud.*

*La aparición de nuevas industrias, especialmente en la segunda mitad del siglo XX, ha hecho que se incrementen considerablemente el número de trabajadores afectados y que de forma continuada se esten describiendo nuevas sustancias, de origen diverso, capaces de producir asma bronquial ocupacional.*

*A pesar de ello, no siempre es conocida la patogenia de los cuadros clínicos descritos. Los mecanismos de hipersensibilidad son los responsables en muchos casos, pero no siempre. Y estos hechos, fijar el agente etiológico, conocer los mecanismos patogénicos, el modo o la forma en que se realiza la respuesta bronquial, la concentración ambiental necesaria para que el agente etiológico desencadene el cuadro de broncoespasmo y otros aspectos de esta peculiar e interesante patología laboral, son absolutamente necesarios para adoptar las medidas preventivas oportunas, tanto en la propia industria, como a nivel del trabajador expuesto y con la posibilidad de enfermar.*

*Cuando se intenta realizar un estudio sobre esta patología en una población de trabajadores expuestos a agentes inductores de asma ocupacional, a las dificultades propias que encierra este cuadro clínico, hay que unir las inherentes a los condicionantes laborales y legales existentes. Es por ello habitual que los estudios sobre este tema existentes a nivel mundial, tengan, salvo raras excepciones, una característica común: la escasez de la muestra o población estudiada.*

*En nuestro trabajo, afortunadamente, esta dificultad, al menos al comenzar el estudio, no existió.*

*El presente trabajo ha sido realizado en un grupo de trabajadores de la Industria Farmacéutica, expuestos en mayor o menor grado a polvo de diversos enzimas proteolíticos, algunos de ellos no reconocidos como son agentes inductores de asma ocupacional. Algunos trabajadores referían la existencia de sintomatología respiratoria que relacionaban con su medio laboral.*

*Cuando iniciamos nuestro trabajo se abrían una serie de interrogantes, a las que se pretendía, en lo posible dar una respuesta. ¿La sintomatología que referían los trabajadores y que relacionaban con su medio laboral, era realmente motivado por su exposición a los enzimas que se utilizaban en su trabajo?. ¿Cuáles de estos enzimas eran los responsables?. ¿La acción patológica se realizaba a través de un mecanismo de hipersensibilidad o, por el contrario, se debía a un mecanismos "irritativo"?. ¿Qué tipo de respuesta bronquial se producía?. ¿En qué medida la existencia de antecedentes alérgicos en los trabajadores facilitaba la aparición de las manifestaciones clínicas?.*

*Estos interrogantes y otros, no menos importantes, fueron contemplados cuando iniciamos nuestro estudio.*

*El primer paso consistió en la recogida de datos personales y sintomatología existente, mediante la entrega de un cuestionario clínico.*

*En segundo lugar, la realización de test cutáneos con los enzimas a los que estaban expuestos.*

*En tercer lugar el estudio "in vitro", en orden a confirmar la posible hipersensibilidad a los enzimas a que hacemos referencia.*

*Y finalmente comprobar la respuesta bronquial específica a dichos enzimas mediante test de provocación bronquial.*

*Con este planteamiento pretendíamos dar respuesta a los interrogantes mencionados y alcanzar los objetivos siguientes:*

- 1) *Valorar la existencia de clínica respiratoria, rinitis y/o asma bronquial, en relación con el medio laboral y cuantificar la prevalencia de la misma.*
- 2) *Demostrar la existencia de sensibilización, en el grupo de trabajadores expuestos, a los enzimas que utilizaban en su trabajo y en qué medida tenía lugar.*
- 3) *Que factores podían estar influyendo ésta sensibilización a nivel personal ( antecedentes alérgicos ) o a nivel ambiental ( grado de exposición ).*
- 4) *Cual de los enzimas utilizados tenía mayor capacidad sensibilizante.*
- 5) *En el supuesto de que se demostrara la existencia de sensibilización a los enzimas, ¿eran estos los responsables del cuadro clínico?. Había que confirmar la relación enzima-respuesta bronquial específica, su intensidad y su forma de producirse.*
- 6) *Finalmente, si fuera posible, que rentabilidad diagnóstica se podía obtener de los métodos empleados en estos pacientes, con el fin de establecer un protocolo diagnóstico de asma ocupacional inducido por mecanismo alérgico y producido por enzimas.*

*Por las razones apuntadas anteriormente creemos que está justificado la realización de este trabajo.*



**CAPITULO I:**

**INTRODUCCION**

## INTRODUCCION

### 1.-CONCEPTO Y DEFINICION DE ASMA OCUPACIONAL

El término de asma ocupacional se emplea para describir los cuadros de obstrucción bronquial reversible que ocurren en los trabajadores como consecuencia de la exposición a polvos, vapores, gases o humos. Sería, por tanto, un asma bronquial debida a la inhalación de sustancias que un trabajador manufactura o usa directamente, o que incidentalmente están presentes en su lugar de trabajo. (1) (2).

Un criterio más restrictivo es el empleado por el Industrial Injuries Advisory Council en Gran Bretaña (3), que la define como el asma que se desarrolla después de un periodo variable de exposición asintomática a agentes sensibilizantes en el trabajo.

Sin embargo el término trabajo u ocupación tiene connotaciones más amplias que las referidas exclusivamente al empleo laboral o al lugar de trabajo; por ello se debería hablar de asma de origen ocupacional, siguiendo a Davies (4), opinión que compartimos, para definir a aquellos cuadros de obstrucción bronquial reversible relacionados con la inhalación de polvos, vapores, gases o humos industriales y que aparecen no solo en el lugar de trabajo sino también fuera de los límites de la propia industria.

La exposición actual a sustancias de utilización industrial, limitada anteriormente al área estrictamente laboral, puede tener lugar en el propio domicilio, al llevar el trabajador dichas sustancias en sus ropas de trabajo, cabellos etc; el desarrollo de otras actividades complementarias (hobbies) facilita la exposición a sustancias capaces de producir asma de origen ocupacional; la liberación o suelta por parte de los recintos industriales al exterior, de sustancias capaces de producir asma ocupacional en los trabajadores expuestos, puede producir los mismos cuadros en la población colindante; el empleo cada vez más intenso de productos químicos o farmacológicos en lugares distintos a los de su producción, como es la agricultura, y que habitualmente tienen gran poder sensibilizante, pueden inducir cuadros de obstrucción bronquial reversible en los agricultores, que deben

ser considerados como asma de origen ocupacional.

Muchos alergen<sup>os</sup> comunes, pueden, en algunas circunstancias, ser causa de origen ocupacional. Es el caso de los pólenes, excretas o epitelios de animales, etc, que pueden inducir cuadros de asma bronquial en jardineros, veterinarios, cuidadores de animales, etc. que por razones obvias, en estos casos, adquirirían la categoría de asma de origen ocupacional.

## 2.- RECUERDO HISTORICO

El riesgo para la salud de los trabajadores expuestos a polvos, vapores, gases o humos industriales, ha sido reconocido desde hace muchos años. Sin embargo hasta el siglo XVII la ciencia médica no mostró preocupación ni interés por la relación entre enfermedad y trabajo; los estudios de Agrícola y Paracelso fueron los primeros en investigar dicha relación.

En el siglo XVIII Ramazzini (5), al que se debe considerar padre de la Medicina Industrial moderna, centró su quehacer profesional en este problema social y médico. Establece que a las preguntas clásicas hipocráticas había que añadir una más: ¿cual es su profesión ?.

Ramazzini fué el primero en describir la existencia de ataques de disnea por la inhalación de polvos orgánicos en los molineros y limpiadores de grano; describió igualmente asma bronquial en los impresores debidas al empleo de gomas vegetales e igualmente en los trabajadores de la industria textil relacionando esta patología con la inhalación de fibras vegetales.

Ya en el siglo XIX, en 1877, se introdujo el término bisinosis por Proust (6) para describir las manifestaciones respiratorias que teñían lugar en los trabajadores expuestos a fibras textiles, cáñamo y lino, manifestaciones ya descritas por Ramazzini. Unos años antes a los trabajos de Proust, se había descrito la "tisis de los hiladores" en los trabajadores expuestos a polvo de algodón (7).

A principios del siglo XX, Karasek (8) describe los primeros casos de rinitis y asma bronquial inducidas por la inhalación de sales de platino en trabajadores de la industria fotográfica y, unos años más tarde se establece que la prevalencia de trabajadores afectados puede alcanzar al 50% de los expuestos. (9).

Cuadro de asma bronquial debidos a la inhalación de polvo de las semi-

llas de ricino utilizadas para la obtención de aceite, fueron descritos en 1928 no solo en los trabajadores expuestos sino también en personas que vivían en zonas colindantes a las plantas de extracción. (10).

Unos años más tarde se describieron los primeros casos de asma ocupacional por inhalación de polvo de enzimas proteolíticos, como la papaina, (11) (12), polvo de maderas, como el cedro rojo, (13) y por harinas de cereales (14) (15).

El desarrollo industrial que ha tenido lugar en los últimos 50 años ha determinado que la utilización de muchas sustancias químicas hayan desencadenado la aparición de cuadros de asma bronquial cada vez más frecuentes. Uno de los ejemplos más notorios fué la introducción masiva, durante la Segunda Guerra Mundial, de los isocianatos. Los efectos adversos de estos productos y la aparición de síntomas respiratorios en los trabajadores expuestos, fueron ya descritos en 1951 (16) al comprobar que de 9 trabajadores que manipulaban dichos productos, 6 de ellos presentaban síntomas respiratorios.

En los últimos años se han descrito numerosos casos de asma ocupacional y por una gran variedad de sustancias tanto en origen como en uso. La problemática actual del asma ocupacional, no solo desde el punto de vista médico, sino también socioeconómico, adquiere capital importancia.

### 3.- PROBLEMATICA ACTUAL DEL ASMA OCUPACIONAL

Tanto desde el punto de vista médico, como económico y social, el asma ocupacional, por su frecuencia cada vez más evidente, por las bajas e incapacidades laborales que ocasiona y, por la aparición, cada vez más frecuente, de nuevos agentes etiológicos, muchas veces desconocidos, está adquiriendo, día a día, más importancia. Por ello todos los avances científicos encaminados a su mejor conocimiento y diagnóstico serán de gran utilidad.

Los siguientes datos, sobre la prevalencia de este proceso patológico nos pueden ayudar a cuantificar la magnitud del problema.

Se estima que en USA unos 10 millones de personas sufren de asma bronquial, lo que representa aproximadamente el 5% de la población total. De ellos el 2% tendrían un asma de origen ocupacional (más de 200 mil personas) (17). En algunas regiones del Japón los pacientes con asma ocupacional representan el 15% de todos los casos de asma bronquial (18).

En España no disponemos de datos estadísticos al respecto, pero cabe suponer que la prevalencia es superponible a las citadas anteriormente, lo que haría que para una población aproximada a los 40 millones, padecería de asma bronquial unos 2 millones de los cuales entre 50 y 200 mil tendrían un asma de origen ocupacional.

El tipo de industria o los agentes potencialmente sensibilizantes usados en las mismas, hace que exista una gran variabilidad en la prevalencia, si bien, en muchas industrias, ésta es desconocida.

Analicemos someramente los agentes etiológicos más importantes y la prevalencia de estos cuadros en las industrias respectivas.

#### A) SUSTANCIAS DE ORIGEN QUIMICO:

El número de sustancias de origen químico, simples o compuestas, capa-

ces de producir asma de origen ocupacional son muy numerosas y las posibles vías de exposición cada vez más amplias (Tabla I). En general son sustancias de bajo peso molecular y no fácilmente identificables.

Las sales de platino constituyen un modelo de estudio del asma ocupacional por sustancias químicas de bajo peso molecular. Aunque ya, desde principios de este siglo, se conocía la capacidad de estas sustancias para inducir cuadros de asma bronquial (8) no fué hasta 1945 (9) cuando se hizo hincapié en la gran importancia de las mismas como agentes etiológicos. Hunter y col. (9) describieron que de 91 trabajadores expuestos a sales de platino, 52 desarrollaron cuadro de asma bronquial, lo que representa una prevalencia superior al 50% de trabajadores afectados. Estudios posteriores indican que si el contacto es regular se afectan prácticamente todos los trabajadores expuestos (19). Las sales de platino se encuentran casi con exclusividad en las refinerías de platino y en algunas industrias químicas. Constituyen uno de los alérgenos mas potentes para el hombre.

Los isocianatos, desde su introducción industrial durante la Segunda Guerra Mundial, son utilizados actualmente en múltiples y variados procesos industriales por lo que el número de personas expuestas es muy elevado. En USA se estima que alrededor de 100 mil personas están expuestas a estas sustancias y entre el 5 y 10% de las mismas desarrollan cuadros de asma ocupacional (20) (21), cifras que, según otros autores (22) (23), serían mucho más elevadas.

Como hemos dicho anteriormente los isocianatos son un grupo de sustancias de bajo peso molecular, muy reactivas y de amplísimas utilidades en las industrias más diversas. En la fabricación de fibras, plásticos, cubiertas de superficie, adhesivos, espumas, pinturas, etc. etc., se utilizan estas sustancias. (Figura 1).

Otras sustancias químicas de amplio uso industrial y que con frecuencia inducen cuadro de asma ocupacional, son los anhídridos ftálico y trimelítico. Se utilizan fundamentalmente en la fabricación de resinas epoxi y, con frecuencia, desencadenan cua-

dros de asma bronquial en los trabajadores expuestos. La prevalencia de esta patología sería del 20 al 30% de los trabajadores expuestos (24) (25); algunos autores cifran el número de los trabajadores afectados en el 60% de los expuestos. Estos compuestos se utilizan especialmente en las industrias del plástico y pinturas, lo que orienta sobre la amplia gama de posibilidades de exposición existentes. (Figura 2).

La colofonia, es una sustancia natural obtenida a partir de la resina del pino que está compuesta por diversos ácidos resínico. Se emplea en industrias muy diversas y constituye una causa frecuente de asma ocupacional, especialmente en trabajadores expuestos a vapores o humos que se desprenden de la misma al ser calentada, cuando se utiliza en soldaduras electrónicas. Desde que se describieron los primeros casos de asma ocupacional por esta sustancia recientemente (1976) por Fawcett y col (27) hasta la actualidad se han descrito numerosos casos, estimándose que la prevalencia de esta enfermedad en los trabajadores expuestos a estas sustancias sería aproximadamente del 20% (28) (29). (Figura 3).

Otras sustancias de origen químico y no menos importantes que las anteriores, capaces de inducir cuadros de asma bronquial, son algunos productos empleados en la industria farmacéutica, como el formaldehído (3), colorantes azo y parafenilendiamina, que afectan entre el 20-40% de los trabajadores expuestos (31) (32); antibióticos, especialmente la penicilina y cefalosporinas (33) (34) (35) y espiramicina (36) y otros.(37).

#### B). SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL:

Las sustancias de origen vegetal son quizás, las causas más comunes de asma ocupacional (Tabla II) y constituyen, muchas veces modelos de estudio de esta patología.

Desde hace años es conocido que diversos polvos de madera inducen cuadros de asma ocupacional en los trabajadores expuestos (38) (39) (40) (41) (42). De ellos el polvo de madera de cedro rojo y de samba han sido los más estudiados.



Por los múltiples trabajos de Chan-Yeung (43) (44) conocemos que en el caso del cedro rojo el agente responsable de la sintomatología clínica es el ácido plicático (Figura 4) sustancia de bajo peso molecular. La prevalencia de enfermedad entre los trabajadores expuestos se sitúa alrededor del 4% (45). Este tipo de asma bronquial, casi exclusivo de Canadá y del noroeste de USA, comenzó a presentarse en Japón con motivo del aumento de importación de esta madera a partir de 1968 (46).

La madera de samba esta siendo objeto, en los últimos años, de diversas investigaciones ya que ha demostrado ser causa no infrecuente de asma bronquial. Los primeros casos han sido descritos recientemente en Italia (47) y en España (41). La demostración de que un mecanismo inmunológico está implicado en la patogenia del cuadro clínico y la demostración de la existencia de reactividad cruzada con otras maderas (42), hace que el asma bronquial producido por polvo de madera de samba, sirva de ejemplo muy valioso, para el estudio de otros cuadros de asma ocupacional alérgica inducida por otras maderas. La prevalencia de sensibilización en los trabajadores expuestos a polvo de madera de samba alcanza el 4%. Si tenemos en cuenta que actualmente la madera de samba es importada por prácticamente toda Europa, nos permite sospechar que el número de trabajadores expuestos es muy elevado (48).

El polvo y harinas de cereales, constituyen una causa importante de asma ocupacional, conocida desde hace muchos años (14) (15), si bien el o los antígenos responsables no son conocidos o pueden ser distintos de uno u otro paciente.

Entre los trabajadores expuestos al polvo del grano de los cereales se estima que el asma bronquial afecta entre el 4 y el 11% (49) (50), mientras que en el caso de trabajadores expuestos a la harina la prevalencia de la enfermedad es mas elevado ya que afecta entre el 20-25% (51) (52). Alemania ha sido uno de los países donde se ha prestado mayor atención a este problema y cada año se describen más de 300 casos de asma ocupacional por harinas de cereales.

Una gran variedad de semillas al ser manipuladas pueden ser causa de

asma ocupacional. El café (53), el ricino (54) (55), la voacanga africana (56), la ispágula (57) (58) (59), entre otras, han sido reconocidas de producir asma ocupacional en las personas expuestas. No existen estudios epidemiológicos que nos permitan cuantificar el número de personas afectadas entre los trabajadores expuestos. Sin embargo, en lo que respecta a la semilla de ricino, se sabe que el poder sensibilizante y la capacidad de inducir asma ocupacional es muy elevada, habiéndose descrito episodios colectivos de asma en poblaciones de Brasil, por la inhalación de polvo de estas semillas, en zonas colindantes a las plantas industriales donde se manipulaba la semilla (10).

Desde que Ramazzini (5) describió las manifestaciones respiratorias que aparecían en los trabajadores expuestos a fibras textiles y Proust (6) introdujo el término de bisinosis para explicar el cuadro clínico relacionado con la inhalación de fibras vegetales (cáñamo y lino), en muchos países se han descrito numerosos casos de ésta patología, cuya etiología se relaciona actualmente con la inhalación de fibras de algodón, cáñamo, lino y sisal. La prevalencia de este cuadro entre los trabajadores expuestos varía de unos países a otros considerablemente. En USA se estima que existen unos 250.000 trabajadores expuestos de los cuales se afectarían entre el 5 y el 60%

En España se han hecho aportaciones importantes al estudio de este cuadro profesional. Las primeras descripciones se deben a Barbero y Flores (60) y a Jiménez Díaz (61) que acuñó para este cuadro el término de canabiosis. Según un trabajo de González Ribas (62), la prevalencia en España de este proceso oscila entre el 3 y el 13% de los trabajadores expuestos, que éste autor cifra en unos 6.000 personas en todo el país. En otros países se dan cifras de prevalencia que oscilan entre el 27 y el 52%, dependiendo del grado de exposición (63).

Los enzimas, derivados de productos vegetales o bien de hongos, bacterias o productos animales, constituyen un factor etiológico muy importante en la patología que nos ocupa.

Ya a los pocos años de comenzar a utilizarse los enzimas proteolíticos

derivados del b. subtilis en Holanda, para la elaboración de detergentes biológicos, se describieron los primeros casos de asma bronquial en los trabajadores expuestos (64) (65). Se han descrito casos de sensibilización a estas enzimas no solo en los trabajadores que están en contacto con estos productos en su manipulación industrial sino también en el medio doméstico por el uso de detergentes (66).

La prevalencia de sensibilización a estas enzimas derivadas del b. subtilis es muy elevada. Algunos autores cifran la misma hasta en el 50-60% de todos los trabajadores expuestos (67) (68). La modificación del proceso de producción de estas enzimas, al hacerlo en forma granulada en vez de en polvo, ha hecho que la prevalencia de sensibilización a los mismos haya disminuido considerablemente.

La papaina y la bromelina son enzimas proteolíticas de origen vegetal, obtenidas de la fruta papaya y de la piña respectivamente; son causa muy importante de producir asma ocupacional. Tienen la propiedad de ser utilizadas ampliamente y en usos muy diversos, lo que unido a su alto poder sensibilizante, hace de los mismos un alérgeno ocupacional de gran importancia (69). Los trabajadores de la industria farmacéutica expuestos al polvo de estas enzimas, utilizados muchas veces en productos farmacéuticos, como ayudas digestivas, son los que con mayor frecuencia se sensibilizan a estas sustancias y desarrollan cuadros de asma ocupacional (70) (71) (72). La prevalencia de asma por papaina puede alcanzar al 50% de los trabajadores expuestos (73) (74) (75).

La bromelina, enzima proteolítico derivado de la piña y utilizado ampliamente como antiinflamatorio o en dispepsias digestivas, induce igualmente asma bronquial en los trabajadores expuestos. Desde los primeros casos descritos (76) hasta la actualidad existen diversas publicaciones al respecto (77) (78).

Algunas enzimas, utilizadas fundamentalmente en las industrias farmacéuticas o alimenticias, derivadas de algunos hongos, han sido también reconocidas como capaces de inducir asma ocupacional. La celulasa, enzima derivado del *Aspergillus niger*, ha

sido descrita recientemente como agente etiológico de asma bronquial en trabajadores de una industria farmacéutica (79). También han sido descritos cuadros de asma bronquial por la inhalación de polvo de alfa-amilasa, enzima proteolítico de origen diverso (*aspergillus orizae*, *b. subtilis* y páncreas de cerdo). Flind (80) describió los primeros casos de asma bronquial por sensibilización a este enzima. Nuestro grupo en un estudio epidemiológico realizado en trabajadores de la industria farmacéutica, encontramos a 26 trabajadores sensibilizados a este enzima de un total de 83 trabajadores testados (datos no publicados). Este hecho nos hace pensar que la prevalencia de asma bronquial por este enzima sea elevado (81) a pesar de las escasas publicaciones existentes.

Otros enzimas han sido reconocidos como agentes etiológicos. Es el caso de la pepsina (82), tripsina (83), flaviastasa (84) y peptinasa (85), si bien la escasez de publicaciones y el pequeño número de pacientes descritos impide cualquier valoración sobre la cuantía de los posibles trabajadores sensibilizados.

### C) SUSTANCIAS DE ORIGEN ANIMAL:

Los trabajadores expuestos a productos derivados de algunos animales (mamíferos, insectos, aves o peces) pueden desarrollar cuadros de asma bronquial en relación con la inhalación y sensibilización a dichos productos.

Profesiones muy diversas están en contacto con productos derivados de diversos animales que son capaces de inducir sensibilización en los mismos y determinar la aparición de cuadros de asma bronquial de origen ocupacional. Hábitos sociales y alimenticios ha hecho que en los últimos años la incidencia de asma bronquial de esta etiología haya aumentado considerablemente. Los veterinarios, biólogos, técnicos de laboratorios, trabajadores de criaderos de mariscos, etc. etc. son algunas de las profesiones con mayor riesgo de contraer esta patología. (Tabla III).

Sin duda los pequeños mamíferos (ratones, cobayas, conejos, etc.) utilizados como animales de laboratorio constituyen la principal causa de asma ocupacional,

afectando de manera muy exclusiva al personal encargado del cuidado de estos animales. Los productos derivados de los mismos, como las excretas, pelos o escamas dérmicas constituyen el agente causal más importante, aunque no se pueden olvidar otras posibles etiologías como pueden ser los insectos, ácaros u hongos que parasitan a los animales o se encuentran en su entorno.

El problema actual de este tipo de sensibilización es muy importante ya que se estima que la prevalencia de asma entre los trabajadores expuestos oscila entre el 3 y el 12% y si nos limitamos a otras manifestaciones respiratorias, rinitis alérgicas, alcanza hasta el 30% (86) (87) (88). (Tabla IV)

Otros productos de origen animal han sido descrito como responsables de producir asma ocupacional en los trabajadores expuestos, siendo su procedencia y las profesiones implicadas muy diversas (89) (90) (91).

Sin duda, al igual que con las sustancias de otras procedencias, la prevalencia de asma ocupacional en los trabajadores expuestos a productos de origen animal, es más elevada de la estimada.

#### 4.- FACTORES PREDISPONENTES

Poco se sabe al respecto y sería de gran importancia conocer aquellos factores que pueden favorecer la aparición de asma ocupacional con el fin de evitar que ciertos trabajos sean realizados por aquellas personas con riesgo de padecer esta patología.

La realización de un "screening" adecuado antes de la admisión del trabajador para un determinado empleo, evitaría, en gran medida, la aparición de esta enfermedad.

Clásicamente se han valorado tres factores facilitadores de la aparición de asma ocupacional : la existencia previa de atopia, la exposición, especialmente en intensidad y duración y, finalmente. la existencia de hiperreactividad bronquial. Vamos a analizar estos factores.

##### A) ATOPIA:

La existencia de atopía ha sido uno de los factores predisponentes a los que se ha prestado mayor atención. Es lógico pensar que las personas con cuadros alérgicos previos al empleo, puedan desarrollar más fácilmente sensibilización a las sustancias a las que están expuestos en su lugar de trabajo.

Este hecho ha podido ser demostrado en diversas industrias, como es el caso de las sales de platino, polvos de cereales, enzimas derivados del *b. subtilis* o productos derivados de animales de laboratorio (1) (4), pero no en otras industrias como es el caso de los isocianatos (21) o polvo de maderas (43).

Es posible que las personas atópicas desarrollen sintomatología clínica más precozmente que las demás y por este motivo se vean forzadas a abandonar el trabajo, mientras que la población no atópica tarde más en sensibilizarse y desarrollar clínica de asma ocupacional. Esta teoría puede justificar que en algunas industrias el factor atópico no haya sido encontrado como importante en las personas afectas.

## B) EXPOSICION:

Es obvio que la aparición de asma de origen ocupacional va unido inherentemente a la exposición a las sustancias responsables. Sin embargo hay que valorar las circunstancias de la exposición, que vendrían dadas por dos parámetros: su intensidad y su duración.

Habitualmente la intensidad de la exposición es desconocida. Se valora arbitrariamente en alta, media o baja, y puede producirse de forma intermitente o continua. Por el contrario, la duración de la exposición es, generalmente, conocida.

Se admite que a mayor exposición existiría mayor prevalencia de asma ocupacional. Sin embargo, este hecho no es tan simple. Es muy probable que existan dos aspectos en la relación dosis de exposición-respuesta del individuo. Por un lado, la dosis necesaria para producir la sensibilización y, por otro, una vez sensibilizado el individuo, la dosis del agente responsable para desencadenar la sintomatología clínica

Respecto a la dosis sensibilizante, en ciertas industrias (ej. isocianatos) se admite que son necesarias dosis altas que se producen muchas veces por accidentes industriales, pero en otros casos no son necesarios estos hechos para la sensibilización de los trabajadores, precisándose pequeñas pero prolongadas exposiciones para inducir la sensibilización (sales de platino, semillas).

Una vez sensibilizado el trabajador se precisan dosis mínimas para la aparición de la sintomatología clínica.

Respecto al tiempo de exposición necesario para que aparezca el cuadro clínico, no es uniforme en todas las industrias y puede variar desde unos meses a varios años.

En ocasiones se producen sensibilizaciones fuera de lugar de trabajo, como es el caso de los que se sensibilizan a través de sus hobbies domésticos (bricolage) o

en las zonas colindantes a la industria o, incluso, la sensibilizaciones que acontecen en familiares de los trabajadores por el material antigénico que éste lleva a su domicilio en su ropa (33) (35) (56). Estos hechos ponen de manifiesto que repetidas exposiciones de pequeña intensidad son capaces de desencadenar cuadros de asma bronquial de origen ocupacional.

### C) HIPERREACTIVIDAD BRONQUIAL:

Todos los pacientes con asma ocupacional se comportan, ante un test de metacolina o histamina, de forma similar a los que presentan asma bronquial no ocupacional. Son portadores de una hiperreactividad bronquial.

Partiendo de esta forma de respuesta, se ha postulado que las personas con un aumento de la hiperreactividad tendrían mayor facilidad para responder con cuadros de asma bronquial ocupacional al estar expuestas, en su trabajo, a alérgenos industriales.

Sin embargo, aunque parece obvio, no existen estudios prospectivos en los que se haya testado la hiperreactividad bronquial en grupos de trabajadores antes de la exposición a alérgenos ocupacionales productores de asma ocupacional.

Lo que se ha demostrado en trabajadores con asma ocupacional por cedro rojo (43) es que, una vez abandonado el trabajo y haber cesado, por tanto, la exposición, continúan presentando hiperreactividad bronquial en los test de provocación con metacolina, por un espacio de tiempo variable, hasta 2 años o más en algunos casos, antes de volver a la normalización del test de metacolina.

Se conoce igualmente que personas que padecen asma bronquial no ocupacional, y por tanto hiperreactivas, no desarrollan cuadros de asma bronquial al exponerse, en su lugar de trabajo por tiempo prolongado, a sustancias conocidas de producir asma de este origen.



Creemos, por tanto, que el hecho de tener hiperreactividad bronquial no siempre obliga a desarrollar asma ocupacional, pero que, en muchos casos, podría facilitar su aparición.



## 5.- MECANISMOS PATOGENICOS

Uno de los aspectos más importantes de cualquier estudio sobre asma ocupacional lo constituye la investigación sobre los mecanismos patogénicos implicados. ¿Cuales son los mecanismos íntimos por los que una sustancia determinada es capaz de inducir un cuadro de broncoconstricción? ¿Se comportan como antígenos completos o incompletos, con todo lo que lleva consigo este hecho en cuanto a respuesta inmunológica, por parte del organismo, frente a dicha sustancia? ¿Inducen el cuadro de broncoespasmo porque desencadenan una hiperreactividad bronquial no inmunológica?. Finalmente ¿Se comportan como irritantes inespecíficos? Ante cualquier caso de asma de posible origen ocupacional, una vez conocidas las posibles sustancias sospechosas, es necesario plantearse estas preguntas.

Si ya en el asma bronquial primario los mecanismos patogénicos son complejos, en el caso de asma de origen ocupacional más aún, y no siempre perfectamente definidos.

Es evidente que muchas sustancias, de las mencionadas anteriormente, por su peso molecular o sus características químicas, se comportan como antígenos y dan lugar a cuadros de asma bronquial en los que el mecanismo inmunológico puede ser perfectamente demostrado. En otros casos, los productos etiológicos o desencadenantes, parecen no actuar por este mecanismo, sino a través de acciones farmacológicas o por acción directa inflamatoria a nivel de la mucosa bronquial favoreciendo la presencia de una hiperreactividad bronquial inespecífica.

Sin duda los mecanismos inmunológicos son los más importantes y mejor estudiados y la aportación que pretende este modesto trabajo es ayudar a investigar este mecanismo para facilitar el diagnóstico de esta patología.

### A) MECANISMOS INMUNOLOGICOS

Muchos agentes etiológicos, de cualquier origen, especialmente los de

elevado peso molecular, actúan por este mecanismo (tabla V).

Las sustancias orgánicas de alto peso molecular pueden producir una respuesta de anticuerpos IgE específicos y en ocasiones, también de anticuerpos de la clase IgG específicos para dicha sustancia. Los productos derivados de animales los enzimas, proteolíticos o no proteolíticos, las semillas, el polvo de algunas maderas, el polvo o harina de cereales y otros, actúan por un mecanismo inmunológico perfectamente demostrado.

En muchos casos éste mecanismo inmunológico se pone de manifiesto por la existencia de test cutáneos positivos y la demostración "in vitro" de IgE y/o IgG específicas. La existencia de antecedentes atópicos es en muchos casos llamativa y se admite que estos antecedentes puede facilitar la aparición del cuadro de asma bronquial ocupacional.

En el asma inducida por productos de animales de laboratorio, se ha podido demostrar que las sustancias antigénicas son, principalmente, proteínas urinarias, identificadas como una globulina alfa 2 en la rata y una prealbumina en el ratón (88) (92), con un peso molecular que oscila entre 15.000 dalton (92) (93).

En el cobaya se han indentificado igualmente en la orina, tres fracciones antigénicas con pesos moleculares que oscilan entre 25.000 y 67.000 dalton (94).

Es tan definido el mecanismo inmunológico, IgE dependiente, en los casos de asma bronquial por exposición a estas sustancias que, la presencia de test cutáneos positivos con un extracto de orina de estos animales, en personas expuestas y con clínica de asma bronquial, es diagnóstico de que el asma tiene dicho origen. La existencia de test cutáneos falsamente positivos es prácticamente insignificante. (87) (88) (95).

La correlación existente entre los test cutáneos positivos con la presencia de IgE específica frente a los antígenos mencionados, es altamente significativa (95) (96).

Los enzimas, ya sean derivados de productos animales, vegetales, bacte-

rias u hongos, constituyen uno de los ejemplos mas demostrativos de que el asma bronquial, en el que son los agentes etiológicos, está determinado por la existencia de mecanismos inmunológicos.

El asma bronquial inducido por enzimas derivados del *B. subtilis* esta condicionado por un mecanismo inmunológico tipo I, IgE dependiente. Este hecho pudo ser demostrado hace años por la existencia de test cutáneos positivos y la demostración "in vitro" de IgE específica (67) (68) y confirmado en estudios posteriores por otros autores (97).

Cuando los agentes etiológicos son enzimas de otros orígenes también ha podido demostrarse que un mecanismo inmunológico es el implicado. La papaina, enzima proteolítico de origen vegetal, y agente etiológico muy importante de asma ocupacional, induce una respuesta inmunológica tipo I, IgE dependiente, y en ocasiones también una respuesta IgE específica. Estos hallazgos inmunológicos se correlacionan con la existencia, en algunos casos, de respuesta inmediatas y tardías en los test cutáneos y con la existencia de respuestas duales en la provocación bronquial específica con dicho antígeno (64) (70) (71) (73).

En las publicaciones existentes sobre asma ocupacional por otros enzimas, se ha demostrado igualmente que los mecanismos inmunológicos son los mediadores del cuadro clínico, en los que, generalmente la respuesta IgE es la responsable.

Galleguillos (76), demostró que la bromelina, enzima proteolítica de origen vegetal, desencadenaba cuadros de asma bronquial a través de una respuesta IgE específica.

Posteriormente Baur (78) y nosotros (77) demostramos éste mecanismo mediante la presencia de test cutáneos positivos y la existencia de IgE específica frente a bromelina en los trabajadores expuestos y con clínica de asma bronquial. Obtuvimos igualmente test cutáneos positivos e IgE específica con bromelina en pacientes no expues-

tos a dicho enzima pero que presentaban asma ocupacional por sensibilización a papaina. Este hecho demuestra la existencia de reactividad cruzada entre ambas enzimas.

Test cutáneos positivos y presencia de IgE específica han sido demostrados igualmente en pacientes con asma bronquial por inhalación de polvo de otros enzimas, como alfa amilasa (80) (81) (98), tripsina (83), pepsina (82) y recientemente con celulasa (79).

Otros productos de origen vegetal que inducen asma bronquial por mecanismos inmunológicos son el polvo de algunas maderas.

Una de las maderas más estudiadas ha sido el cedro rojo del Canadá por el grupo de M. Chan-Yeung. La sustancia responsable ha sido identificado como el ácido plicático, sustancia de bajo peso molecular (400 dalton). En algunos pacientes se ha demostrado que en los test cutáneos con el ac. plicático se produce una liberación de histamina y que este efecto farmacológico podría explicar el cuadro de broncoespasmo (99). Estudios "in vitro" han demostrado que el ac. plicático es capaz de activar la vía clásica del complemento (100) y recientemente se han demostrado la presencia de IgE específica, en el 40% de los pacientes testados, frente a un conjugado de ácido plicático-seroalbumina humana (44) (101). De estos datos se puede concluir que en el asma inducido por cedro rojo, aunque hay sospechas fundadas de que intervenga un mecanismo inmunológico, no siempre éste es demostrado, y es muy posible que otros mecanismos estén implicados.

En los pacientes con asma bronquial por el polvo de otras maderas sí ha podido demostrarse fehacientemente la existencia de mecanismos inmunológicos, fundamentalmente IgE dependiente. Nuestro grupo (41) (42) demostró este mecanismo, mediante test cutáneos positivos en lectura inmediata e IgE específica en pacientes expuestos a polvo de maderas de samba y ramin y con clínica de asma bronquial. Se demostró igualmente la existencia de reactividad cruzada entre ambas maderas.

Estos hechos son de gran importancia ya que abren una vía de estudio, y

constituyen un modelo de trabajo, para el diagnóstico de asma ocupacional producido por la inhalación de polvo de otras maderas.

Otras sustancias de origen vegetal, como las harinas de cereales, actúan por mecanismos inmunológicos. Test cutáneos positivos con harinas de cereales y la presencia de IgE específica, han podido ser demostrados en trabajadores expuestos a estos productos y con clínica de asma bronquial en relación con su medio laboral (102) (193) (104). En muchos casos ha podido ser demostrada la existencia de reactividad cruzada entre diversos cereales (105).

Las semillas, conocidas desde hace muchos años como responsables de producir cuadros de asma bronquial en los trabajadores expuestos, actúan igualmente por un mecanismo inmunológico.

La semilla de ricino tiene un alto poder sensibilizante, como quedó demostrado por la existencia de auténticos brotes epidémicos de asma bronquial en los habitantes de poblaciones colindantes con las plantas industriales donde se molía esta semilla (10). Estudios recientes han demostrado la existencia de test cutáneos positivos e IgE específica en los trabajadores con clínica de asma bronquial por la inhalación del polvo de estas semillas (54) (55).

Otras semillas, como la ispágula, producen con frecuencia cuadros de asma bronquial en las personas expuestas al polvo de la misma (57) (59). Una vía de exposición a dicha sustancia lo constituye el trabajo de enfermería al administrar productos farmacológicos, que contiene dichas semillas, como acontece con algunos laxantes mucilaginosos. En todos los casos descritos de asma por esta sustancia se ha demostrado la existencia de un mecanismo inmunológico IgE dependiente, puesto de manifiesto por test cutáneos positivos y la presencia de IgE específica "in vitro".

Recientemente nuestro grupo ha descrito un caso de asma bronquial ocupacional por exposición a una semilla africana que está adquiriendo gran importancia

en la industria farmacéutica, como es la voacanga africana (56). Como en los casos anteriores la existencia de un mecanismo inmunológico IgE dependiente pudo ser demostrado.

En las sustancias de origen químico, habitualmente de bajo peso molecular, inferior a los 1000 dalton, la demostración de un mecanismo inmunológico no siempre es posible.

En algunos casos estos compuestos actúan como haptenos y, unidos a un "carrier", pueden comportarse como antígenos completos. Cuando ocurre así, se ha podido demostrar la presencia de IgE específica frente al combinado hapteno-proteína. Este hecho demuestra que en algunos casos estas sustancias de bajo peso molecular pudieran actuar por éste mecanismo y desencadenar asma bronquial por mecanismo inmunológico.

Las sales de platino constituyen un ejemplo de sustancias de bajo peso molecular que inducen cuadros de asma bronquial en los que está perfectamente demostrado la existencia de mecanismos inmunológicos responsables del cuadro clínico (106). Es tan alto el poder sensibilizante de éstas sales metálicas que se han descrito reacciones anafilácticas al realizar test cutáneos (107). La presencia de IgE específica frente a conjugados de éstos compuestos con seroalbúmina humana, también ha podido ser demostrada (106) (108).

En el caso de otros metales productores de asma bronquial, como el níquel o el cromo, el mecanismo patogénico no es conocido, si bien se han descrito la existencia de IgE específica para sulfato de níquel en trabajadores expuestos y que presentaban cuadros de asma bronquial (109).

Los isocianatos constituyen uno de los principales agentes etiológicos en el asma ocupacional y, por la profusión de su uso, tiene una enorme importancia en ésta patología. A pesar del enorme interés despertado por éstos productos, y por explicar el mecanismo patogénico por el que inducen asma bronquial, no ha podido ser dilucidado totalmente.

Hay datos que sugieren que un mecanismo inmunológico IgE dependiente interviene en la patogenia de éste asma bronquial, pudiendose demostrar, en algunos casos, la existencia de anticuerpos IgE específicos frente a un conjugado de isocianatos con seroalbúmina humana en trabajadores expuestos y con clínica de asma bronquial (23) (110) (111) (112), sin embargo éstos resultados no han podido ser ratificados mediante los test cutáneos (113).

Los anhídridos del ac. ptálico y trimelítico inducen asma ocupacional con alta frecuencia y la población expuesta se afecta de ésta patología en número elevado. En los trabajadores expuestos y con clínica de asma bronquial se ha demostrado la presencia de IgE específica frente a un conjugado de ac. ptálico y trimelítico con seroalbúmina humana (114) (24). Los test cutáneos con conjugados de éstos compuestos con seroalbúmina humana han sido encontrado igualmente positivos en éstos trabajadores.

Con otras sustancias de bajo peso molecular, como la resina natural (colofonia) obtenida del pino y compuesta de ácidos resínicos, ac. pimárico, ac. abiético y ac. dihidroabiético, no se ha podido demostrar la existencia de mecanismos inmunológicos a pesar de las evidencias indirectas que apoyan ésta hipótesis. Los intentos de demostrar IgE específica, en los trabajadores afectados, tanto "in vitro" como "in vivo", han sido infructuosos (115).

La inhalación de polvo de algunos antibióticos, especialmente penicilina y penicilinas semisintéticas, es causa igualmente de asma bronquial. En los casos estudiados no ha sido posible demostrar la existencia de un mecanismo inmunológico determinado y los estudios realizados con éste fin han sido negativos (33) (35).

#### B) MECANISMOS NO INMUNOLOGICOS

Como hemos mencionado anteriormente, en muchos casos de asma ocupacional, especialmente en aquellos producidos por sustancias de bajo peso molecular, todos los intentos de demostrar la existencia de un mecanismo inmunológico, que explicara



el cuadro clínico, han sido infructuosos. Se involucran, en éstos casos, otros posibles mecanismos, no siempre bien estudiado o conocidos.

Una característica del asma ocupacional es la marcada susceptibilidad de las vías aéreas a estímulos físicos, químicos o farmacológicos. En el asma bronquial existe una hiperreactividad bronquial a agentes farmacológicos como la histamina, carbacol y metacolina, a sustancias químicas como la se rotinina, bradiquinina y prostaglandina F2 y a agentes físicos como el aire frío, el ejercicio o la inhalación de sustancias irritantes. La broncoconstricción producida por éstos factores es más intensa en el músculo liso bronquial de una persona asmática que en el de una persona sana.

Esta hiperreactividad bronquial inespecífica, existente en el asma ocupacional, puede ser debida a mecanismos muy diversos y no siempre bien conocidos, pero podría explicar algunos casos de asma ocupacional no inmunológica.

### 1) ACCION FARMACOLOGICA

Algunas sustancias inductoras de asma ocupacional podían actuar por mecanismos similares a los producidos por algunos agentes farmacológicos capaces de inducir broncoconstricción. En éstos casos debería haber una relación dosis-respuesta entre el grado de exposición y la cuantía de la respuesta broncoconstrictora, de tal modo que, si la dosis de exposición es suficientemente alta, todas las personas expuestas deberían desarrollar broncoespasmo en mayor o menor cuantía.

Un mecanismo farmacológico ha sido implicado en el asma inducida en agricultores por el uso de insecticidas fosforados, que tienen un efecto anticolinesterasa (116).

La inhibición o bloqueo del sistema beta-adrenérgico podría ser la vía de acción de algunas sustancias inductoras de asma ocupacional, como es el caso de los isocianatos, cuyas posibles respuestas inmunológicas ya fueron comentadas anteriormente.

Mediante estudios "in vitro" se ha podido demostrar que el TDI compite con el isoproterenol y la prostaglandina E 1 disminuyendo la producción intracelular de AMP cíclico en los linfocitos periféricos (117). Estas propiedades tienen lugar solamente con altas concentraciones de iso-cianatos.

Recientemente Bernstein (118) explica que los isocianatos probablemente causen una inhibición no específica de una variedad de receptores de membrana y sistemas enzimáticos y que por esta vía podrían inducir broncoconstricción.

La posible acción farmacológica involucrada en el asma ocupacional por isocianatos o ac. plicático, no explica por qué solamente el 5% de los trabajadores expuestos desarrollan asma bronquial. Es posible que éstas acciones farmacológicas interactúen o potencien los posibles mecanismos inmunológicos, que no siempre han podido ser demostrados.

En la bisinosis, enfermedad conocida desde hace más de un siglo, y cuyos mecanismos de producción aún no han sido aclarados, se ha postulado que diversos mecanismos no inmunológicos podrían estar involucrados.

Se ha demostrado que la inhalación de un extracto de polvo de algodón produce una respuesta bronquial no sólo en los trabajadores expuestos sintomáticos sino también en muchas personas sanas no expuestas. Estos hechos y otras observaciones realizadas "in vivo" e "in vitro" sugieren que el polvo de algodón produce una liberación de histamina que sería la responsable de la obstrucción bronquial que aparece en estos pacientes (120). Esta acción farmacológica explicaría por qué la mayoría de las personas expuestas son afectadas y también por qué las personas sanas y no expuestas presentan síntomas en la primera exposición realizada adecuadamente, pero no con una segunda exposición realizada 24 horas más tarde (deplección de la histamina bronquial después de la primera exposición).

Se ha demostrado igualmente que el principal agente metabólico de la

histamina, el 1-4 metilimidazolacético, aumenta su excreción los lunes en las personas expuestas y afectas de éste proceso.

La hipótesis de la liberación de histamina es actualmente la más aceptada para explicar la bisinosis.

Otros posibles mecanismos no inmunológicos para explicar la bisinosis sería la demostración de la presencia de endotoxinas en el polvo de algodón. Se ha demostrado que el polvo de algodón está contaminado por bacterias y hongos y algunos autores señalan que el descenso de FEV1 que aparece los lunes en los trabajadores sintomáticos, se correlaciona con el número de bacterias gram-negativas, que contaminan las fibras (121) (122). Recientemente se ha demostrado que los extractos de algodón son ricos en endotoxinas son capaces de activar el complemento por la vía alternativa con la consiguiente generación de anafilotoxinas y liberación de histamina (123).

## 2) LESION EPITELIAL

La lesión del epitelio bronquial podría influir en algunos casos de asma ocupacional. Los agentes ambientales pueden alterar la permeabilidad del epitelio al modificar las uniones intercelulares, facilitándose el ingreso de macromoléculas. Esta injuria epitelial reversible podría determinar la existencia de hiperreactividad bronquial (124).

La penetración de macromoléculas a través de las uniones intercelulares podrían actuar sobre las terminaciones nerviosas vagas dando lugar a una exageración del reflejo tusígeno y de la broncoconstricción. Podrían actuar igualmente sobre los mastocitos existentes en el músculo liso bronquial y provocar la degranulación y liberación de mediadores.

El aumento de la permeabilidad facilitaría el ingreso de otros agentes ambientales o antigénicos. Esto hace que el daño permita aún cuando el contacto con la noxa desencadenante, lo que da lugar a una persistencia de la hiperreactividad bronquial a

agentes inespecíficos, para ir disminuyendo hasta desaparecer cuando la recuperación del daño epitelial sea total. Este fenómeno es habitual en diversos tipos de asma ocupacional, especialmente en el caso de isocianatos (125) y cedro rojo (44).

### 3º INFLAMACION BRONQUIAL:

Gandevia (123) describió la broncoconstricción inflamatoria aguda producida por la inhalación accidental de altas concentraciones de gases o vapores irritantes. En general la obstrucción bronquial se desarrolla en pocas horas, persiste durante una semana y se normaliza al cabo de 3-4 meses.

Muchas sustancias pueden tener este efecto: el formaldehído, ozono, dióxido de nitrógeno, dietilendiamina y otros.

Estudios anatomopatológicos en pacientes que han sufrido este cuadro muestran la presencia de lesiones en la mucosa bronquial con edema y hemorragias. Existe una marcada reacción inflamatoria, con infiltrados pulmonares e hiperplasia de las glándulas de la submucosa bronquial.

Cuando la inhalación de sustancias irritantes tiene lugar en un paciente con asma bronquial previa, se agrava el proceso de base, y la hiperreactividad desencadenada puede persistir semanas o meses, aunque la concentración de la sustancia irritante sea baja. Algo semejante ocurre en aquellos trabajadores que presentan asma ocupacional cualquiera que sea su etología o su mecanismo de producción.

Recientemente se ha descrito una variante de asma ocupacional que ha sido llamado "Síndrome de disfunción de las vías aéreas"(127), para explicar una situación clínica, que simula un asma bronquial y que acontece en algunas personas tras la exposición de altas concentraciones de sustancias irritantes, lo que da lugar a hiperreactividad bronquial. La persistencia de la sintomatología puede alcanzar a los 5 años o más. No es conocido el mecanismo íntimo de este proceso, pero puede ser debido a una respuesta

inflamatoria extensa, con subsiguiente reepitelización o que el incremento de la hiperreactividad bronquial sea debido al aumento de la permeabilidad epitelial por la inhalación de dichas sustancias.

Lo que parece evidente es que el asma ocupacional puede ser desencadenada por diversos mecanismos de los cuales el más conocido y preciso es el inmunológico.

## **6.- AGENTES ETIOLOGICOS DE ASMA OCUPACIONAL**

Se han descrito más de 200 sustancias capaces de producir asma ocupacional y la lista se está incrementando progresivamente (2).

El origen o procedencia de las sustancias implicadas pueden ser muy diverso: origen animal, vegetal o químico. (Tablas I-II-II).

Atendiendo al mecanismo por el que induce asma bronquial se pueden agrupar en dos grandes grupos: sustancias que inducen asma por mecanismo alérgico demostrado, que generalmente son de alto peso molecular y aquellas otras, en las que el mecanismo alérgico no está claro o no ha podido ser demostrado.

### **1.- SUSTANCIAS DE ORIGEN ANIMAL**

Los trabajadores expuestos a productos derivados de algunos animales (mamíferos, insectos, aves o peces) pueden desarrollar cuadros de asma ocupacional.

En los últimos años se ha incrementado la sensibilización a productos derivados de animales, afectando a personas de profesiones muy diferentes: veterinarios, biólogos, farmacólogos, técnicos o cuidadores de animales de laboratorio, trabajadores de criaderos de marisco etc. (Tabla III). El pelo, excretas y escamas dérmicas suelen ser los agentes responsables, pero también lo pueden ser los ácaros, hongos o pequeños insectos existentes en el medio ambiente o que parasiten a los animales.

### **2.- SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL**

Constituye una de las causas más importantes de asma ocupacional. Los más importantes son polvo de maderas, cereales, harinas, fibras vegetales, enzimas y otros productos (Tabla II). Cada una de estas sustancias constituye por sí misma un capítulo importante y han sido motivo de estudios variados y extensos.

En general, aunque no siempre, son sustancias de alto peso molecular y

su investigación ha servido de modelo de estudio del asma ocupacional de origen alérgico.

La variabilidad de las industrias a través de las cuales se puede establecer una exposición a estas sustancias, es grande y el número potencial de personas, afectas o con riesgo de sufrir este cuadro clínico es muy numeroso.

### **3.- SUSTANCIAS DE ORIGEN QUIMICO**

En este grupo entrarían a formar parte agentes tan diversos como los isocianatos, medicamentos, sales metálicas o insecticidas (Tabla I). La diversidad de industrias y la posibilidad de estar expuestos a los mismos son muy numerosas y en la actualidad algunas de estas sustancias, por su amplio uso y por su capacidad sensibilizante, constituyen la causa más importante de asma ocupacional.

El desarrollo industrial de los últimos años ha hecho que el incremento de la patología laboral alérgica se haya elevado, en algunas industrias, hasta límites alarmantes. Los problemas sociales y económicos que plantea constituyen un motivo de evidente preocupación social.

En general son sustancias de bajo peso molecular y, aunque en algunos casos, se ha podido demostrar fehacientemente la existencia de un mecanismo patogénico inmunológico, no siempre ésto ha sido posible.

## **7.- MODELOS DE RESPUESTA BRONQUIAL**

La exposición provocada al agente responsable en una persona con asma ocupacional, puede dar lugar, básicamente, a tres tipos de respuesta bronquial (1) (4), en relación con el tiempo de aparición y su duración.

### **1.- RESPUESTA INMEDIATA**

Este tipo de respuesta comienza rápidamente, a los 10-20' generalmente, de realizar la prueba de provocación y es de corta duración. Muchas veces se puede demostrar la existencia de un mecanismo alérgico Tipo I, mediante la realización de test "in vivo" o "in vitro" que demuestre la existencia de IgE específica. En estos casos la respuesta se debe a la degranulación de los mastocitos bronquiales inducida por la combinación de los determinantes antigénicos del alérgeno con la IgE específica frente al mismo, con la consiguiente liberación de mediadores broncoconstrictores.

Esta respuesta es inhibida, en gran parte, con CGDS y mejora consideradamente con el empleo de beta estimulantes. (128) (129) (Figura 5).

### **2.- RESPUESTA TARDIA**

En general comienza a partir de una hora, o más tarde de la realización del test de exposición, alcanza el pico máximo a las 3-5 horas y regresa a la normalidad a las 12-24 horas.

En ocasiones el comienzo se inicia a las 3-4 horas de realizar la prueba, alcanza el pico máximo a las 5-8 horas y finaliza pasadas 24-36 horas.

El mecanismo por el que se produce esta respuesta tardía es controvertido. En un principio, por la acción terapéutica inhibitoria de los esteroides, y por la similitud con la respuesta que se produce en pacientes con aspergilosis broncopulmonar alérgica, hizo pensar que se producía a través de un mecanismo de hipersensibilidad tipo III



(inmunocomplejos), pero la ausencia de fiebre, leucocitosis, síntomas sistémicos, infiltrados pulmonares y anticuerpos precipitantes frente a los alérgenos, desechó esta posibilidad. Actualmente se puede afirmar que la IgE juega un papel fundamental, a lo que había que añadir los componentes inflamatorios. (130).

No siempre se puede demostrar, en estos casos, la participación de un mecanismo inmunológico, influyendo en gran parte el componente inflamatorio bronquial en el desencadenamiento de este tipo de respuesta (Figura 6).

Los esteroides constituyen la medicación más eficaz para anular esta respuesta y también puede ser inhibida por el CGDS. (131).

### **3.- RESPUESTA DUAL**

Se dan ambas respuestas, inmediata y tardía. Habitualmente en el 50% de respuestas tardías existe respuesta inmediata. El CGDS en ocasiones inhibe ambas respuestas. (Figura 7).

## **8.- METODOLOGIA DIAGNOSTICA DEL ASMA OCUPACIONAL**

El diagnóstico de asma ocupacional ha de cimentarse en dos pilares fundamentales : Primero, establecer el diagnóstico de asma bronquial, y segundo, demostrar la relación entre el cuadro de asma y el medio laboral.

Una vez confirmados ambos hechos se impone demostrar , si existe, que el asma es producida por un mecanismo inmunológico.

La Historia clínica, los test cutáneos y serológicos y los test de provocación bronquial, constituirán la fuente de información necesarios para llegar al diagnóstico final.

### **1.- HISTORIA CLINICAL INDIVIDUAL**

Un paciente con asma ocupacional puede presentar los síntomas típicos de asma bronquial. La tos, sibilancias, opresión torácica y episodios, más o menos intensos, de disnea paroxística, suelen estar presentes.

A veces la tos es el síntoma más llamativo y no es infrecuente que aparezcan síntomas nasales como en cualquier coriza alérgico.

Es habitual que el paciente se encuentra mejor por la mañana, empeorando a los largo del día. A veces la sintomatología se acentúa o se pone de manifiesto por la noche y, como norma general, existe marcada mejoría los fines de semana; los períodos vacacionales o de absentismo laboral, si son amplios, cursan con ausencia de sintomatología.

Es fundamental establecer la posible relación de la sintomatología con el medio laboral del paciente. En ocasiones es el propio paciente el que establece ésta relación, especialmente cuando se trata de sustancias que inducen respuesta bronquial inmediata. Cuando el agente responsable en una sustancia de bajo peso molecular, que

habitualmente da lugar a cuadros asmáticos tardíos, con sintomatología predominantemente nocturna, es más difícil establecer la relación entre su cuadro clínico y el medio laboral.

El hecho de que otros trabajadores no presenten sintomatología no siempre diferencia el posible efecto irritativo de los fenómenos alérgicos. Y esto es muy importante. En general el asma aparece después del contacto repetido con el agente nocivo. El tiempo de exposición se prolonga meses o años antes de la aparición del asma. El número de trabajadores afectados es escaso, a diferencia de lo que ocurre cuando el efecto es irritativo. Por otra parte, para desarrollar cuadros asmáticos por mecanismos inmunológico se precisan cantidades mínimas de la sustancia responsable, que son incapaces de producir un efecto irritativo.

Hay que tener en cuenta que un asma preexistente no ocupacional, puede empeorar en el medio laboral por sustancias irritantes existentes en el medio ambiente.

Habitualmente el examen físico del trabajador en el consultorio no aporta ningún signo de obstrucción bronquial. Sin embargo, el examen realizado en el medio laboral puede demostrar la existencia de sibilancias, aunque a veces, solamente la tos y/o opresión torácica son los síntomas presentes.

Los datos de laboratorio, especialmente eosinofilia sanguínea o en esputo, son los habituales en cualquier asma bronquial inducida por mecanismo alérgico.

Establecida o sospechada esta relación es muy importante conocer, lo mejor posible, el entorno laboral del trabajador y, sobre todo, las sustancias a las que directa o indirectamente está expuesto.

Es habitual o deseable, en la patología que nos ocupa, realizar estudios epidemiológicos en una población expuesta a agentes capaces de inducir asma ocupacional, mediante cuestionarios clínicos que recojan la existencia de sintomatología sospe-

chosa, mediante estudios de función pulmonar que nos permitan demostrar la existencia de obstrucción bronquial, y mediante estudios inmunológicos para demostrar la presencia de IgE específica frente a las sustancias sospechosas siguiendo el siguiente esquema general(Tabla VI).

## 2.- TEST CUTANEOS Y SEROLOGICOS

El determinar el mecanismo por el que se produce el asma ocupacional y la influencia etiológica de una sustancia determinada o de varias sustancias sospechosas y existentes en el medio laboral, es fundamental.

Es muy importante demostrar la existencia de un posible mecanismo alérgico. Para ello, la realización de test cutáneos y serológicos en busca de IgE específica, es obligada.

Para que estos test puedan ser realizados es preciso adecuar las sustancias sospechosas de modo que puedan ser utilizadas, tanto para los test cutáneos y serológicos como para los test de provocación inhalativa (132).

En general con las sustancias de alto peso molecular, que habitualmente inducen asma bronquial por mecanismo inmunológico, la preparación de extractos utilizables para el diagnóstico no suele encerrar dificultades.

En el caso de sustancias de bajo peso molecular, que actúan en ocasiones como haptenos, es preciso acoplarlas a un "carrier", para que sean capaces de inducir una respuesta positiva, IgE mediada, tanto para test cutáneos como para test serológicos (133).

Es necesario investigar el estado atópico del paciente, mediante la realización de test cutáneos convencionales y realizar controles de especificidad en personas expuestas y asintomáticas, así como en atópicos no expuestos y personas sanas para descartar falsas positividades

### a.- TEST CUTANEOS

Los test cutáneos, como medio diagnóstico de cualquier proceso alérgico, se han utilizado desde hace más de un siglo. Blackey (1.865) (134) observó que la aplicación en su piel, mediante una simple abrasión, de una antera de Lolium (él era polí-

nico), inducía la aparición de una pápula con eritema. Sin embargo hasta los primeros años de este siglo no se comenzaron a utilizar de forma rutinaria, en el diagnóstico de los procesos alérgicos. Su eficacia, si están bien realizados, ha sido ampliamente contrastada.

Actualmente el método mas utilizado es el Prick Test. Mediante esta técnica la cantidad de alérgeno introducida es extremadamente pequeña ( $3 \times 10^{-6}$  ml) (135).

Con anterioridad se utilizaba, y en ocasiones se sigue utilizando la intradermorreacción. En este caso se inyecta intradérmicamente una cantidad de 0,02 ml del alérgeno.

Sin duda alguna las ventajas de la técnica del Prick Test son considerables, pero, sobre todo, es más segura. La prueba intradérmica es mucho más sensible (136) y por ello puede dar lugar a reacciones anafilácticas severas, especialmente con antígenos de potencia desconocida. La posibilidad de inducir con esta técnica reacciones falsamente positivas no es infrecuente. Por ello, especialmente en el campo del asma bronquial ocupacional, donde empleamos alérgenos no siempre conocidos, es aconsejable utilizar el Prick Test y, sólo, en el caso de que este sea negativo, podemos realizar pruebas intradérmicas comenzando con diluciones altas del antígeno.

Cualquiera que sea la técnica es necesario utilizar controles con histamina y suero salino.

En algunos casos puede ser utilizada la técnica de Prausnitz-Kustner descrita por estos autores en 1.921 (137) y conocida como P-K (transferencia Pasiva).

A pesar de que actualmente ha caído en desuso, no siempre justificado, su utilidad a lo largo de los años ha sido considerable. Es una técnica sensible y fiable, que puede ser utilizada en el diagnóstico etiológico del asma ocupacional.

Una vez excluidos como donantes los que presentan sospecha o confirmación de Hepatitis o Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, se inyectan 0,02 ml de

suero del paciente supuestamente alérgico en la espalda del receptor (intradermicamente), en tantos puntos como antígenos o concentraciones del antígeno se vayan a probar. A las 48 horas se inyecta el antígeno o los antígenos a probar en los mismos puntos donde se inyectó el suero, realizándose la lectura a los 20'.

El calentamiento del suero del donante por encima de 56°C destruiría la IgE existente por su termolabilidad, dando lugar a una negatividad del test. Este hecho confirmaría, que la positividad de un P.K. con suero no calentado y la negatividad del mismo con el suero calentado a 56°C, es debida a la presencia de IgE específica.

#### b.- TEST SEROLOGICOS:

La búsqueda "in vitro" de IgE específica no fue posible, hasta hace pocos años, con las técnicas habituales, ya que estas detectaban anticuerpos convencionales de la clase IgG ó IgM. Esta dificultad era debida a que no había sido identificada la IgE y a que su contenido en el suero era extremadamente pequeña.

Actualmente la búsqueda de IgE específica, se realiza fundamentalmente por dos métodos: uno radioinmunológico (RAST), y otro Inmunoenzimático (ELISA) (138) (139).

El RAST (radio-alergo-sorbent-test), consiste básicamente en unir el alérgeno a una fase sólida (discos de papel ó celulosa). A continuación se añade el suero del paciente que, si tiene anticuerpos IgE para dicho alérgeno, se unirán al mismo, y permanecerán unidos al mismo, después de la fase de lavado con lo que se eliminan las proteínas no fijadas. En una segunda fase se añade el antisuero anti-IgE humana marcada con radioisótopos (yodo-radioactivo), que se fijará específicamente al complejo disco-alérgeno-anticuerpo IgE (caso de que existan). Después de eliminar las fracciones no fijadas mediante lavado, se puede medir la cantidad de la anti-IgE unida al complejo, mediante un contador gamma. El número de cuentas por minuto (c.p.m.) es proporcional a la cantidad de anticuerpo IgE para ese determinado alérgeno.

El ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay), es en la actualidad más usado que el RAST.

Los principios de ésta técnica son similares a los del RAST. El alérgeno es unido a una fase sólida, pocillo o disco, incubándolo con el suero problema y, tras eliminar las proteínas no fijadas a la fase sólida, se añade anti-IgE marcada con un enzima, habitualmente peroxidasa; posteriormente se añade el sustrato del enzima que producirá una reacción coloreada medible por fluorimetría y cuantificada en unidades, a una determinada longitud de onda, en un espectrofotómetro.

En el caso de asma ocupacional, si los agentes etiológicos son de alto peso molecular, una vez adecuados los mismos, como se explicó anteriormente, la utilización de ésta técnica es similar a cuando se utilizan alérgenos convencionales. Si por el contrario las sustancias son de bajo peso molecular es preciso unirles previamente a un "carrier" proteico, generalmente seroalbumina humana, para que puedan inducir una respuesta positiva.

En nuestro grupo se ha utilizado, con excelente resultados, el REIA (reverso enzimoimmunoensayo) (140) (70)(41).

En el apartado material y métodos se describe con detalle la técnica utilizada en nuestro trabajo.



### 3.- TEST DE FUNCION PULMONAR:

La finalidad de los test de función pulmonar es demostrar que existe un patrón obstructivo reversible, que ésta obstrucción está en relación con el medio laboral, que existe hiperreactividad bronquial inespecífica y finalmente que el agente sospechoso induce en el paciente un cuadro de obstrucción bronquial.

a) El estudio seriado del PERFR ("Peak Flow), flujo espiratorio máximo, permite demostrar el comportamiento bronquial a lo largo del día, tanto en el medio laboral como fuera del mismo. Se precisa la colaboración del paciente que ha de realizar 3 espiraciones forzadas independientes, cada 2 horas, anotando la de mayor cuantía, desde que se levanta hasta que se acuesta, al menos durante 3 semanas laborales incluyendo fines de semana. Si es posible sería aconsejable que lo realizase también en periodos de absentismo laboral.

Esta determinación, si es correctamente realizada, nos permite demostrar si durante el periodo laboral se produce deterioro de la función respiratoria y si ésta se normaliza o no fuera del mismo.

Se utilizan diversos aparatos, en general de uso sencillo, entre ellos están el Mino-Right, Mini-Bell, Peak Flow, Wistle Vitalograf, etc (Foto 1). El trabajador ha de anotar en unas gráficas adecuadas los resultados obtenidos para que puedan ser valorados correctamente.

La determinación de PEFR es un medio simple y sus valores fiables y reproducibles. Fué introducido como método exploratorio de la obstrucción bronquial por Wright y Mekerrow en 1.959. (141).

La realización de una espirometría convencional, CV y FEV1, en periodo de absentismo laboral y con posterioridad a la exposición industrial, suele ser revelador de la presencia de obstrucción bronquial, como lo es la determinación del FEV1, antes

y después del turno laboral.

El estudio de la función pulmonar es fundamental para confirmar el diagnóstico de enfermedad obstructiva de la vía aérea y han sido propuestas recomendaciones para su correcta utilización (142).

b) El estudio de la hiperreactividad bronquial inespecífica es un buen indicador de la presencia o ausencia de asma bronquial.

Se utilizan habitualmente estímulos farmacológicos como la metacolina o histamina, o estímulos físicos como el aire frío.

El hecho de que el asma bronquial, cualquiera que sea su origen, lleve consigo la existencia de hiperreactividad bronquial, permite que el manejo adecuado de estos agentes, inductores de hiperreactividad bronquial, sean útiles para demostrar que existe, y en que cuantía.

Posiblemente los agentes más utilizados, sean la metacolina y la histamina (143) (144) (145).

Aunque se han descrito diversas metodologías, en general, son reproducibles totalmente si se tienen en cuenta los factores técnicos y no técnicos que los puede alterar.(146).

La determinación de la PC20 nos permite determinar el grado de la hiperreactividad bronquial existente.

En ocasiones esta hiperreactividad bronquial persiste un tiempo prolongado, incluso superior a 2 años, después de abandonar la exposición al alergeno responsable en el lugar de trabajo.

Esta exploración ha de realizarse en períodos asintomáticos y en muchas ocasiones, aún después de abandonar el trabajo, han de ser realizados periódicamente

como seguimientos de la evolución del asma ocupacional.

c) Los test de provocación inhalativa con las sustancias sospechosas son de gran importancia en el diagnóstico de asma ocupacional, aunque no están exentos de riesgos. Por ello estos test han de realizarse en medio hospitalario.

Se han descrito diversos métodos para la realización de este tipo de test. (131) (147) (148) (149).

El alérgeno puede ser inhalado a través de un nebulizador, utilizando una solución acuosa del mismo o en forma de polvo mezclado con lactosa. En ambos casos la cantidad de alérgeno inhalado es cuantificable bien en peso-volumen, cuando se utiliza en forma acuosa, ó bien en peso real si se utiliza en forma de polvo.

Un registro espirométrico nos permitiría comprobar con qué concentración el descenso del FEV<sub>1</sub>, es igual o superior al 20% del basal.

Más difícil resulta cuando se trata de polvos químicos de composición compleja o de vapores. Estos últimos requieren cabinas con medidores de la cantidad de partículas existentes en un volumen determinado. Para la provocación inhalativa con polvos complejos se han utilizado bateas o envases para pasar el polvo de uno a otro, en habitaciones cerradas y de volumen conocido, y medir la cantidad de partículas de polvo por m<sup>3</sup>; este proceso encierra grandes dificultades para que sea fiable y es extremadamente peligroso.

El test de provocación bronquial ha permitido comprobar los diferentes tipos de respuesta bronquial a la exposición con agentes inductores de asma ocupacional, y que fueron explicados anteriormente. Una respuesta inmediata aparece a los pocos minutos de la realización del test, alcanza el pico máximo a los 10-30 minutos y se normaliza aproximadamente a la hora. La respuesta tardía aparece varias horas después del test de provocación (entre 3-8 horas) y se resuelve a las 24 horas aunque a veces persiste hasta las

36 horas. Un 50% de las respuestas tardías, se preceden de una respuesta inmediata, dando lugar así a la respuesta dual. Otros modelos menos definidos también han sido descritos, como la respuesta nocturna recurrente, especialmente con sustancias de bajo peso molecular.

Para excluir reacciones falsamente positivas y debidas a un efecto irritante no específico, es preciso utilizar pacientes asmáticos, atópicos y no atópicos, especialmente atópicos, y trabajadores expuestos y asintomáticos, como controles.

En algunas ocasiones es necesario realizar provocaciones nasales con el alérgeno. La sintomatología respiratoria puede circunscribirse exclusivamente a la nariz, con la aparición de un coriza, sin que necesariamente se exprese también a nivel bronquial. La nariz constituirá el único órgano de choque.

Desde hace muchos años, el test de provocación nasal con el alérgeno, se ha utilizado en el diagnóstico de la alergia nasal. Aunque su papel diagnóstico no ha sido aún firmemente establecido, es evidente que, bien empleados, son de gran utilidad en el campo experimental. (150). A pesar de los inconvenientes que puede presentar esta exploración, no cabe duda que puede aportar información acerca de la sensibilidad del órgano de choque al alérgeno en cuestión.

Una respuesta positiva, vendría dada por la presencia inmediata en el tiempo, entre 1/2 minuto y 2 minutos, de estornudos en salvas, rinorrea y bloqueo nasal más o menos intensos.

Recientemente se está utilizando un método cuantitativo para valorar la obstrucción nasal, como es la Rinomanometría anterior y posterior, con lo que se puede medir el flujo nasal a través de neumotacógrafo.

**9.- TABLAS, FOTOGRAFIA Y FIGURAS**

3

TABLA I

## SUSTANCIAS DE ORIGEN QUIMICO QUE PUEDEN CAUSAR ASMA

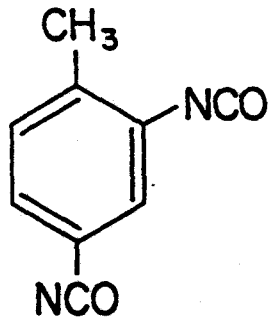
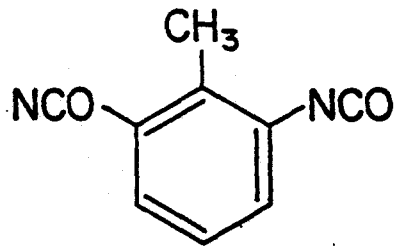
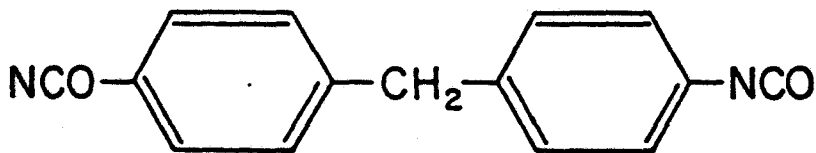
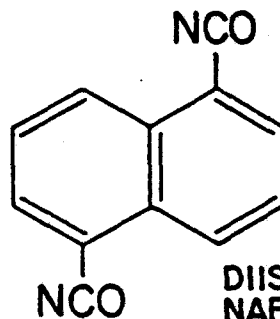
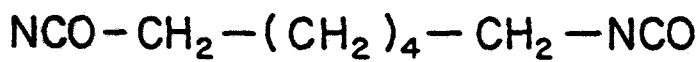
AGENTE	ACTIVIDAD
<u>Sustancias químicas</u>	
Parafenilendiamina	Tintura de pieles, industrias químicas
Piperacina	Procesamientos químicos
Formaldehido	Enfermería, Anatomía patológica tareas de laboratorio
Fenol	Industrias químicas, tareas de laboratorio
Cloramina	Cervecería
Sulfatiazol	Manufactura
Sulfoncloramida	Manufactura
Acido tánico	Bronceadores en aerosol
Derivados de la raíz de lirio florentino	Industria cosmética, peluquería
Trietiltetramina	Fabricación de filtros para aviones
Aminoetanolamina	Soldadura de aluminio
Etilendiamina	Fabricación de gomas, lacas; fotografía
Piretrinas	Fumigación
Diisocianatos	Industrias químicas, fabricación de espuma de poliuretano
Anhídrido ftálico y otros	Industrias químicas, manufactura de resinas epoxi, herramientas, pintura
Gomas arábica, tragacanto	Imprenta
Tioglicato de amonio	Salones de belleza, industrias cosméticas
Colofonia	Electrónica
Sistemas de ligadores de resinas	Moldes de fundición
Colorantes reactivos	Manufactura de colorantes

TABLA I

## SUSTANCIAS DE ORIGEN QUIMICO QUE PUEDEN CAUSAR ASMA

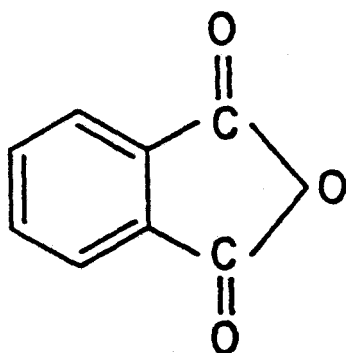
AGENTE	ACTIVIDAD
Sales de persulfato, extracto de alheña	Peluquería, industrias químicas
<u>Sales metálicas</u>	
Platino	Refinerías de platino, industrias químicas
Níquel	Plateados, ingeniería química
Aluminio (o emanaciones)	Industrias químicas, fundiciones
Vanadio	Limpieza de calderas, procesamientos de minerales
Cobalto	Refinería y aleaciones
Acero inoxidable	Soldadura
Cromo	Cromado, industrias químicas, curtidores
Carburo de tungsteno	Molienda de metales duros
<u>Drogas</u>	
Psyllium	Elaboración de laxantes
Hidrocloruro de amprolio	Alimentos balanceados avícolas
Antibióticos: penicilina y similares	Industria farmacéutica
Pesticidas, insecticidas	Elaboración, agricultura, fumigación
Vocanga africana	Obtención de Alcaloides

Figura 1

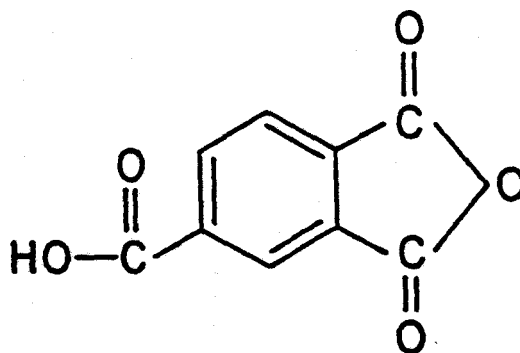
ISOCIANATOS2.4 DIISOCIANATO DE TOLUENO  
(T. D. I.)2.6 DIISOCIANATO DE TOLUENO  
(T. D. I.)DIISOCIANATO DE DIFENILMETANO  
(M. D. I.)DIISOCIANATO DE  
NAFTALENO (N. D. I.)DIISOCIANATO DE HEXAMETILENO  
(H. D. I.)



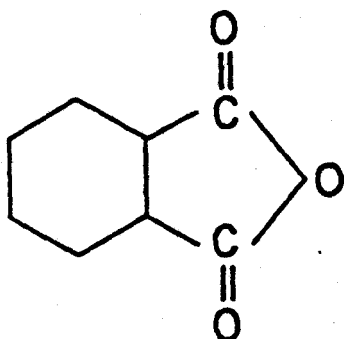
A. PTALICO Y TRIMELITICO



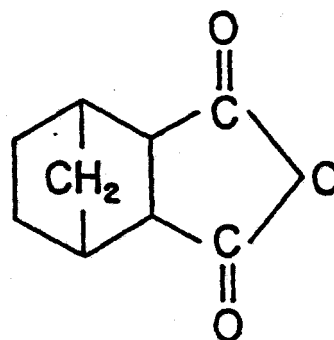
A. PTALICO (P.A.)



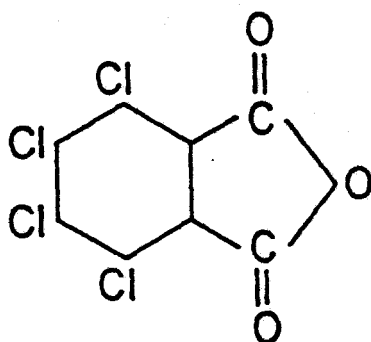
A. TRIMELITICO (T.M.A.)



A. HEXAHIDROPTALICO (H.H.P.A.)

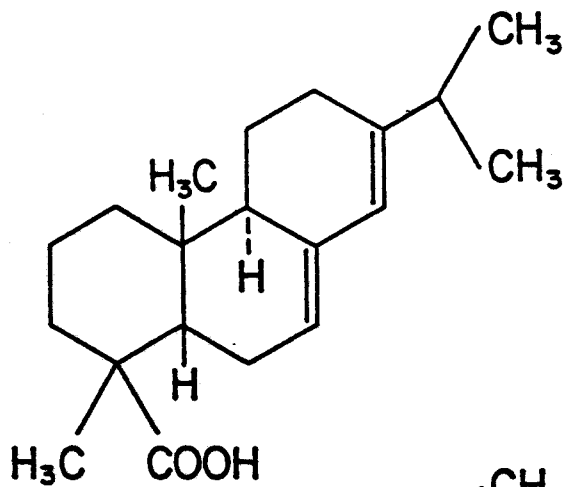


A. HIMICO (H.A.)

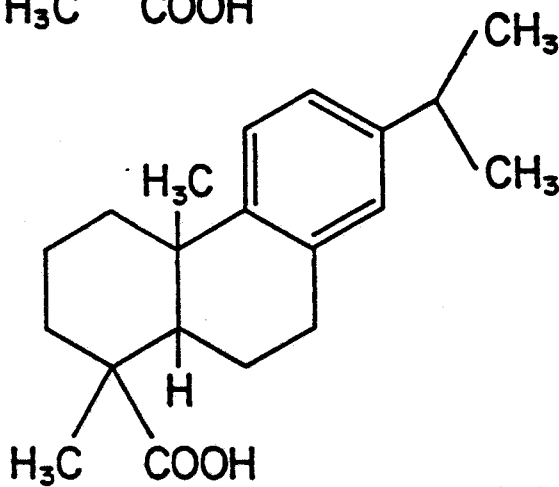


A. TETRACLOROPTALICO (T.C.P.A.)

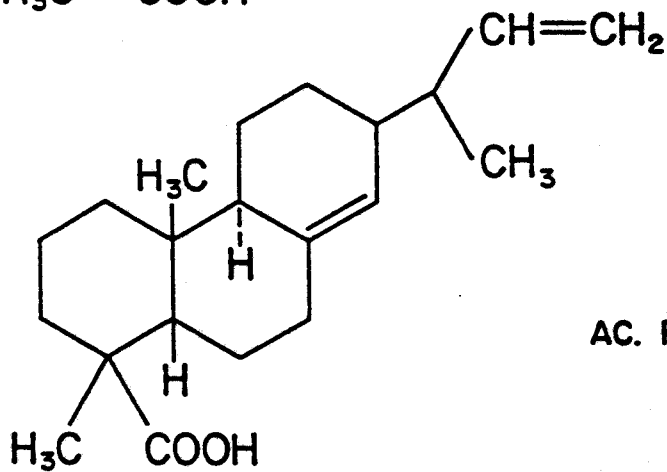
COLOFONIA (AC. RESINICOS)



AC. ABIETICO



AC. DEHIDROABIETICO



AC. PIMARICO

TABLA II

## SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL QUE PUEDEN CAUSAR ASMA

AGENTE	ACTIVIDAD
<u>Enzimas vegetales</u>	
Papaína	Tecnología de la alimentación y farmacéutica
Diastasa	Industria de la alimentación y farmacéutica
Pectinasa	Industria farmacéutica y de la alimentación
Bromelina	Industria farmacéutica y de la alimentación
<u>Gomas vegetales</u>	
Caraya	Procesamientos de alimentos
Arábiga	Imprentas
Acacia	Imprentas
Tragacanto	Imprentas
<u>Hongos esporas</u>	
Alternaria y Aspergillus	Panadería
Esporas de Cladosporium Verticillum Paecilomyces	Granjas
Merulius lacrymans	Tareas domésticas, preparación de paprika
Hongos de las hortalizas	Recolección de apio
Hongos de las setas	Manufactura de hongos comestibles
Hongos en general	Pompas fúnebres
Amilasa micótica	Procesamiento de enzimas
Celulasa micótica	Industria farmacéutica y de la alimentación

TABLA II

## SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL QUE PUEDEN CAUSAR ASMA

AGENTE	ACTIVIDAD
<u>Harinas</u>	
Harina, polvo de cereales	Trabajadores de elevadores de granos panaderías, molinos, depósitos, jdársenas
Harina de trigo	Panadería
Harina de centeno	Panadería
Trigo sarraceno	Panadería
Lúpulo	Cervecería, agricultura
Harina y polvo de soja	Procesamiento de soja
Polvo de ajo	Elaboración de especias
Semillas de tamarindo	Molinos
Borra de té	Industria del té
Hojas de tabaco verde	Industria del tabaco
Hojas de té verde	Industria del té
Granos de café verdes y tostados	Industria del café
Semillas de ricino	Agricultura, molinos, industrias químicas, transporte
Maico	Elaboración de comida japonesa, molinos
Semillas de algodón	Panadería, Fertilización

## TABLA II

## SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL QUE PUEDEN CAUSAR ASMA

AGENTE	ACTIVIDAD
Linaza	Extracción de aceite
Semillas de lino	Industria del lino
Psyllium	Personal farmacéutico
Lycopodium clavatus	Odontología
Goma de acacia	Imprenta
Goma tragacanto	Imprenta, elaboración de golosinas y gomas
Polen de frutilla	Agricultura
Voacanga africana	Industria quimicofarmacéutica
<u>Maderas</u>	
Cedro rojo del Oeste	Industria de la madera, carpintería
Cebra africana	Ebanistería
Cedro del Líbano	Fabricación de lanzaderas
Boj sudafricano	Fabricación de moldes
Roble	Acabados de madera
Caoba	Maquinistas
Mansonia	Aserraderos, carpintería, acabados de madera
Abiruana	Aserraderos, carpintería, acabados de madera
Cocaballa	Aserraderos, carpintería, acabados de madera
Kejaat	Aserraderos, carpintería, acabados de madera
Pino gigante de California	Aserraderos, carpintería, acabado de madera

## TABLA II

## SUSTANCIAS DE ORIGEN VEGETAL QUE PUEDEN CAUSAR ASMA

---

AGENTE	ACTIVIDAD
<u>Maderas (Continuación)</u>	
Ramín	Aserraderos, carpintería, acabados de madera
Samba	Aserraderos, carpintería, acabados de madera
Quillaja	Manufactura de saponina
Iroco	Aserraderos
Morera	Aserraderos

Figura 4

AC. PLICATICO

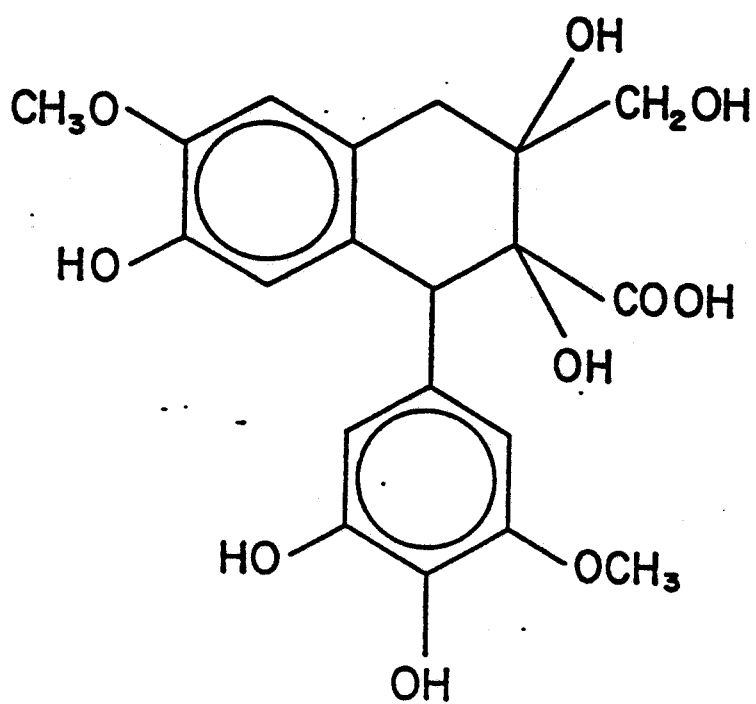


TABLA III

## SUSTANCIAS DE ORIGEN ANIMAL QUE PUEDEN PRODUCIR ASMA

AGENTE	ACTIVIDAD
Animales de laboratorio (pelos escamas epidérmicas, ácaros, descamaciones, orina y proteínas séricas)	Personal de laboratorio (ratas, ratones, cobayos, conejos)
Animales domésticos carne,	Granjeros, veterinarios, procesadores de inspectores
Extractos de órganos animales (ACTH, GTH, peptona hipofisiaria)	Personal farmacéutico
Aves (plumas, suero, excrementos)	Observaciones de pájaros, avicultores, procesadores, desplumadores
Líquido de ascidia	Recolectores de ostras y perlas, peladores de ostras
Camarones	Procesadores de camarones
Ostras de cultivo	Peladores de ostras
Polvo de madreperla	Abridores de caparazones de perlas
Lana	Trabajadores de la lana
Ameba y otros microorganismos	Impresores que utilizan agua contaminada
Enzimas animales: tripsina, extracto pancreático, bromelina, flaviastasa, tra- lipasa, celulasa, alfa amilasa	Personal de laboratorios médicos y farmacéuticos, procesadores de polímeros plásticos, bajadores farmacéuticos, niños con enfermedad fibroquística y sus padres, procesadores de enzimas farmacéuticos
Bacillus subtilis	Manipuladores de enzimas detergentes
Esperasa	Manipuladores de enzimas detergentes
Cola (de pescado)	Encuadernadores, empleados de correos



## TABLA III

## SUSTANCIAS DE ORIGEN ANIMAL QUE PUEDEN PRODUCIR ASMA

AGENTE	ACTIVIDAD
Cabello humano	Peluqueros
<u>Insectos</u>	
Coleópteros	Cuidadores de zoológicos
Gorgojos	Trabajadores de silos, muelles molinos
Acaros de los cereales	Granjeros, trabajadores portuarios
Langostas	Personal de laboratorio, escolares y maestros
Gorgojo mejicano	Procesadores de guisantes y porotos
Polillas, mariposas	Entomólogos
Gusanos de seda (hebras, cola, sericina)	Criaderos y cortadores
Insectos picadores	Agricultores, personal de laboratorio, estudiantes
Cucarachas	Personal de laboratorio, estudiantes y agricultores
Grillos	Trabajadores al aire libre
Larvas de moscas	Pescadores
Moscas de río	Trabajadores al aire libre
Moscones	Trabajadores al aire libre
Moscas de albañil	Trabajadores al aire libre

TABLA IV

## PREVALENCIA DE ALERGIA A ANIMALES DE LABORATORIO

Trabajadores estudiados	Sintomáticos	Asma	Asma en los sintomáticos	Referencia
258	11.3	5	48	LINCOLN et al (1974)
1293	14.7	10.4	71	LUTSKY and NEWMAN (1975)
474	23	9	39	TAYLOR et al (1.976)
625	14.5	7.4	51	PHILLIPS et al (1.977)
399	15	7.5	50	GROSS (1.980)
585	19.5		15.3	DAVIES and McARDLE (1981)
179	27	12	44	COCKCROFT et al (1.981)
146	30	8	26.6	SLOVAK and HILL (1.981)
144	19	7.5	39.4	NEWMAN TAYLOR et al (1.981)
121 a (1.981)	32.2	4	12	SCHUMACHER et al
Media b				
455.8	19.3	7.75	42.7	

a: Expuestos solo a ratones. (\*)

b: Excluidos los expuestos solo a ratones.

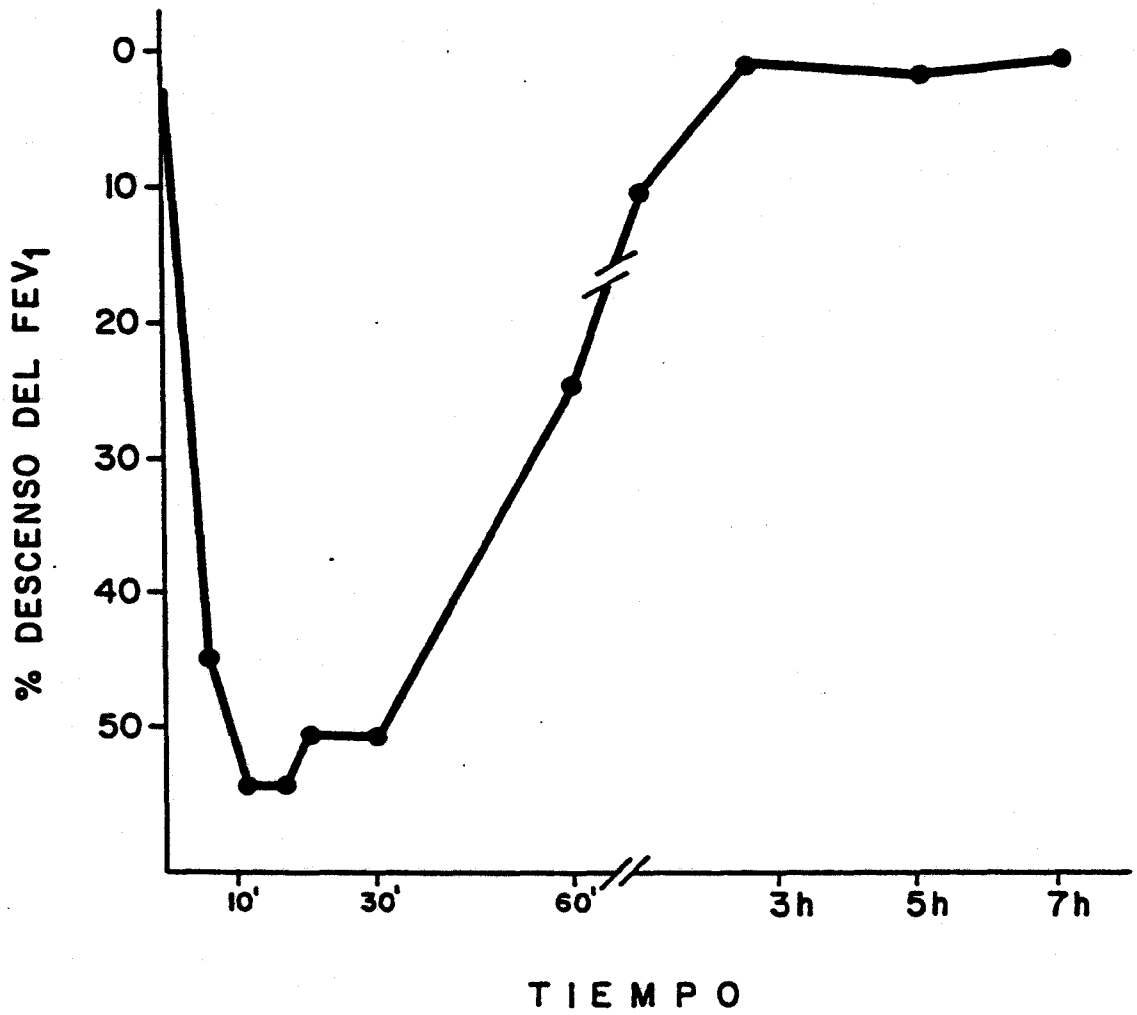
(\*) Tomados de: LONGBOTTOM, J.L.: Occupational Allergy due to Animal Allergens. Clinics in Immunology and Allergy 4,20,1984 (94)

## TABLA V

**ACTIVIDADES Y ALGUNAS CAUSAS DE ASMA OCUPACIONAL ASOCIADO  
CON  
ANTICUERPOS IgE ESPECIFICOS**

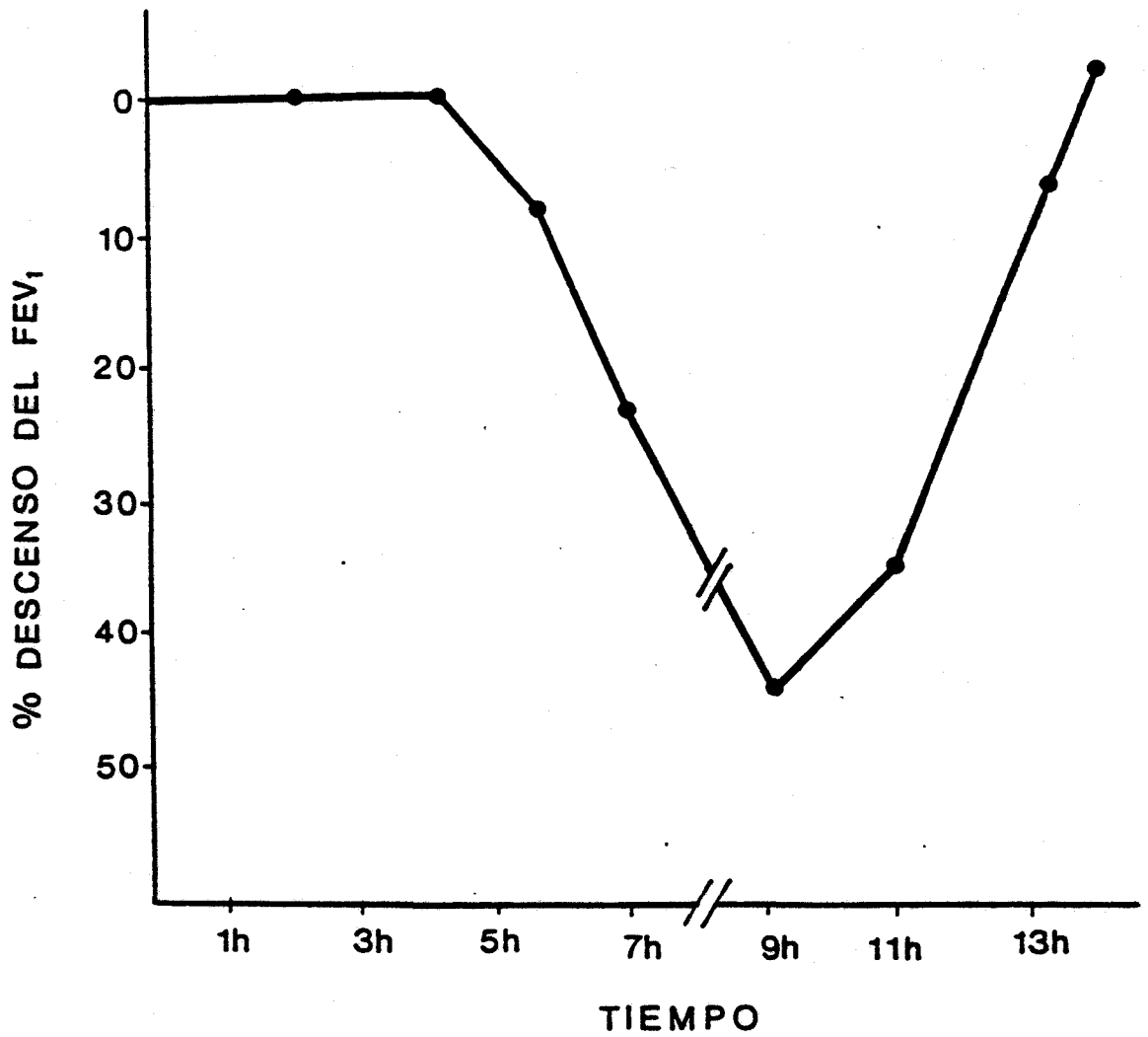
AGENTE	ACTIVIDAD
Trabajo con animales	Descamaciones animales, pelos, orina, suero
Elaboración de antibióticos	Penicilina y drogas similares
Fabricación de detergentes	Bocillus subtilis, esperasa
Panaderías	Harina: trigo, centeno, trigo sarraceno
Manufactura de café o té	Café verde, polvillo del té
Extracción de aceite, prensado	Semillas de ricino
Manipulación de especias y enzimas	Ajo en polvo, papaína, peptinasa, tripsina, goma caraya, maico, celulasa, alfa amilasa, bromelina
Aserraderos	Ramín, corteza de quillaja, cebrá africana, iroco, samba
Fabricación de plásticos	Anhídrido ftálico y otros
Imprentas	Goma arábiga y de acacia
Pesca	Pescados y mariscos: ascidia, camarones
Manejo de sustancias químicas	Sulfoncloraminas, colorantes azo, etilendiamina, parafenilediamina, antraquinona
Manipulación de semillas	Plantago ovata, Voacanga africana

Figura 5



RESPUESTA BRONQUIAL DE TIPO INMEDIATO  
PROVOCACION BRONQUIAL CON MADERA DE SAMBA (10% p/v)

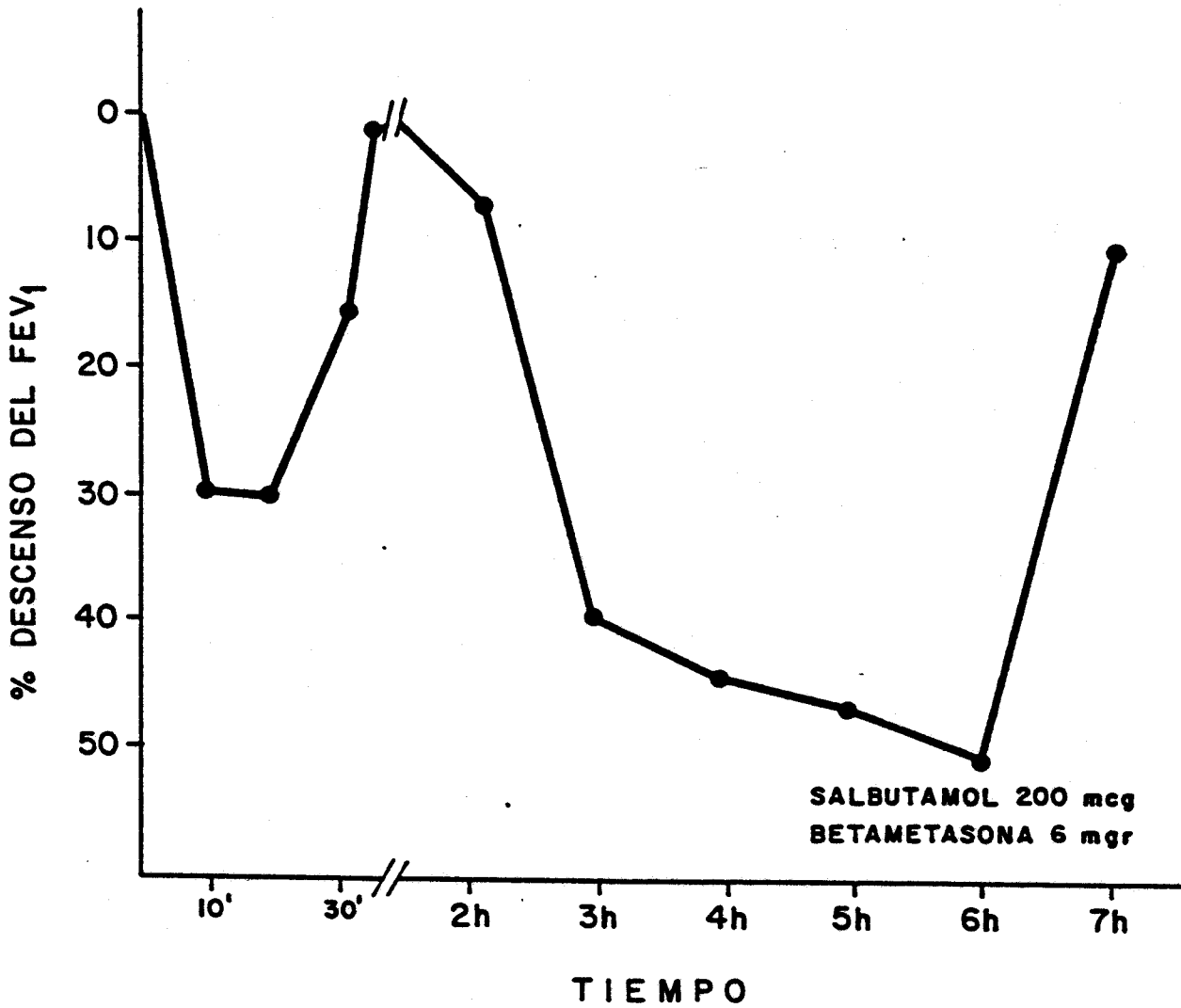
figura 6



RESPUESTA BRONQUIAL DE TIPO TARDIO (RECOGIDA DE DATOS  
CON PEAK FLOW)

PROVOCACION BRONQUIAL CON HARINA DE TRIGO (10% P/V)

Figura 7



RESPUESTA BRONQUIAL DE TIPO DUAL.

PROVOCACION BRONQUIAL CON POLVO DE PAPAINA (0.1mg)

**TABLA VI****ESQUEMA GENERAL DE DIAGNOSTICO****I CUESTIONARIO CLINICO**

- A. Síntomas típicos de asma ocupacional.
- B. Síntomas respiratorios no típicos.
- C. Ausencia de síntomas respiratorios.

**II ALTERACIONES INMUNOLOGICAS**

- A. Presencia de IgE específica (Test Cutáneos, PK, REIA, etc.).
- B. Presencia de otras alteraciones inmunológicas (IgG, etc.)
- C. Presencia del estado atópico (Test Cutáneos, Rast frente a alérgenos comunes).
- D. Ausencia de alteraciones inmunológicas.

**III TEST DE FUNCION PULMONAR**

- A. Demostración de obstrucción bronquial.
- B. Medida de FVE1 antes y después del trabajo (descansos del 10-15% debe considerarse significativo).
- C. Medidas seriadas del P.E.F.R.
- D. Ausencia de alteraciones respiratorias.

**IV TEST DE REACTIVIDAD BRONQUIAL**

- A. Existencia de Hiperreactividad bronquial.
- B. Ausencia de Hiperreactividad bronquial.

**V PROVOCACION BRONQUIAL ESPECIFICA**

**FOTOGRAFIA 1:**

**TIPOS DE MEDIDORES DEL "PEAK FLOW"**





**CAPITULO II**

**MATERIAL Y METODOS**

## MATERIAL Y METODOS

### 1. SELECCION DE PACIENTES

Cuando se intenta realizar un estudio epidemiológico sobre asma bronquial en una población de trabajadores expuestos a agentes inductores de esta patología, la investigación, en el lugar de trabajo, mediante cuestionarios clínicos es uno de los métodos más aceptados.

Siguiendo esta metodología, entregamos un cuestionario clínico. (Tabla VII) a los trabajadores de una industria farmacéutica, donde se elaboran diversos productos farmacológicos que contenían enzimas proteolíticas y no proteolíticas, como Papaína, Alfa Amilasa, Lipasa y Celulasa.

De 150 trabajadores existentes contestaron el cuestionario entregado 82 trabajadores, que constituyeron el material utilizado en nuestro estudio.

Con anterioridad había sido estudiado otro trabajador que, aunque no relleno el cuestionario, fue incluido en el estudio, por lo que la muestra de trabajadores expuestos fué de 83.

De ellos 72 eran mujeres y 11 varones, con edades comprendidas entre los 19 y 63 años.

El cuestionario clínico recogía datos sobre existencia o no de antecedentes alérgicos, tiempo de trabajo en la fábrica, zonas en las que desarrollaba su actividad laboral, sintomatología que presentaba y tiempo de inicio de la misma, y finalmente posible relación de sus síntomas con el lugar de trabajo.

A todos los trabajadores encuestados se les practicaron test cutáneos con los enzimas a las que estaban expuestos y se les extrajeron 10 cc. de sangre para la realización de test "in vitro". Estos mismos estudios se realizaron en el grupo de control consti-

tuido por 50 pacientes con asma bronquial alérgica de otra etiología y 50 pacientes no alérgicos, obtenidos de nuestra consulta.

## 2. PREPARACION DE ANTIGENOS

Las sustancias madre fueron proporcionadas por el laboratorio farmacéutico, en forma de polvo. Se realizaron extractos para diagnóstico de Papaína, Alfa Amilasa, Lipasa y Celulasa.

La Papaína es un enzima proteolítico, derivada de la carica papaya, con un peso molecular de 23.000 Daltons y de amplia utilización en industrias farmacéuticas, alimenticias, cosméticas, etc. y de alto poder sensibilizante. Constituye, sin duda, una fuente etiológica importante de asma ocupacional.

La Alfa Amilasa, utilizado en el laboratorio farmacéutico, es un enzima proteolítico, derivado del *aspergillus orizae*. Otras fuentes de este enzima son el páncreas de cerdo la saliva humana, y el *b. subtilis*. Tiene un peso molecular de 51.000 Daltons y sus aplicaciones industriales son numerosas, especialmente en la industria alimenticia y farmacéutica

El nombre de Celulasa hace referencia a un grupo de enzimas que catalizan la degradación de celulosa a glucosa. Se obtiene de diversos hongos, principalmente de *trichoderma viride* y del *aspergillus niger*. El utilizado en la industria farmacéutica procedía del *aspergillus niger* y fue el que usamos para nuestro estudio, tiene aplicaciones clínicas como ayuda digestiva en la industria farmacéutica y también en la industria alimenticia.

La Lipasa procedía de páncreas de cerdo, tenía actividad lipolítica y su utilización fundamental deriva de su actividad digestiva.

Se realizaron igualmente extractos para diagnóstico con otros enzimas a los que no estaban expuestos, como Bromelina, derivada de la piña, y Alfa Amilasa y Tripsina procedentes ambos de páncreas de cerdo.

Para diferenciar los 2 Alfa Amilasas utilizados en el trabajo hemos denominado como "F" la usada en la fábrica y como "C" la procedente de páncreas de cerdo.

Con el polvo de estas sustancias obtuvimos extractos para diagnósticos siguiendo la siguiente metodología.

Utilizamos como líquido extractor PBS a un PH de 7,4, a temperatura de laboratorio, permaneciendo en agitación durante 60 minutos. La concentración utilizada para todos los enzimas fue de 2 gr. en 20 cc. de PBS. Posteriormente fue pasado por papel de filtro y más tarde dializado en PBS durante 24 horas con el fin de evitar posibles irritantes. Finalmente para su esterilización, se pasa por filtro Millipore, quedando la solución final en una concentración que consideramos al 10% P/V (Fotografías 2, 3, 4).

### **3. PROTOCOLO DE TEST CUTANEOS (Prick test y P-K).**

De esta solución final (10% P/V), se realizaron diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000, por lo que las soluciones finales utilizadas para test cutáneos eran de 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 para todos los enzimas (Tabla VIII).

Comenzábamos los test cutáneos, con las diluciones más altas, 1/1000 ó 1/10000, utilizando la técnica del Prick-test, según procedimiento descrito por Morow Brown (151); la lectura se realizaba a los 15 minutos y se utilizaba como control positivo fosfato de histamina al 1/100 y como control negativo PBS. Si con estas diluciones el test cutáneo era negativo se testaban progresivamente diluciones más concentradas hasta conseguir una respuesta positiva o alcanzar la concentración del extracto madre. Se consideró positivo al test cuando aparecía una pápula igual o superior a la inducida por la histamina o que, aún siendo menor, presentase pseudópodos.

Para evitar reacciones falsamente positivas utilizábamos la máxima concentración en pacientes atópicos y no atópicos no expuestos (grupo control).

Dada la posibilidad de que aparecieran respuestas tardías se procedía a realizar una nueva lectura a las 4-6 horas.

Las mismas diluciones se utilizaron para la realización del test de transferencia pasiva (P.K) en algunos trabajadores que, con posterioridad, fueron sometidos a un estudio más completo.

A todos los trabajadores se le realizaron test cutáneos con una bacteria de alérgenos habituales (Abelló Lab): Acaros, Pólenes de gramíneas y olivo, y, epitelios de gato y perro, con el fin de detectar un posible estado atópico.

#### 4. TEST "IN VITRO".

##### A). DETERMINACION DE IgE ESPECIFICA

Se determinó mediante un método de enzimoimmunoensayo reverso (REIA), ya descrito anteriormente para otros antígenos (140) (152) (153), cuyos pasos son los siguientes (Figura 8).

1) CONJUGACION DEL ALERGENO: El método que hemos utilizado para la conjugación del alérgeno es el descrito por Hakane (154) con algunas modificaciones. Un vial de peroxidasa tipo VI de 5.000 U (Sigma USA) fue diluido en 1 ml. de PBS.

A continuación mezclamos 0,250 ml. de esta solución con 0,1 ml. de 1-fluoro-2-4 dinitrobenzeno (FDBN) (Eastman, USA), diluido en etanol absoluto al 1%, manteniéndolo 1 hora a temperatura ambiente en oscuridad para bloquear los grupos epsilon-amino del enzima. Posteriormente se añadió 0,1 ml. de metaperiodato sódico (Sigma USA), 0,3 M, dejando la solución durante 30 minutos, agitando suavemente a temperatura ambiente y en oscuridad para oxidar los residuos carbohidrato. A continuación la mezcla se pasó por una columna de cromatografía de 10 ml. de Sephadex G-25 (Pharmacia, Uppsala, Suecia) equilibrada con PBS recogiendo la fracción marrón de peroxidasa activada, aproximadamente 1 ml.

Esta peroxidasa activada fue mezclada con 150 ml. de los distintos enzimas: Papaína, Alfa Amilasa (F), Celulosa Lipasa, Bromelina, Fripsina y Alfa Amilasa (C) (3 mg/ml) y 100 l. de tampón carbonato-bicarbonato, 1 mol/L y ph 9,5. Esta mezcla fue mantenida a 4 grados centígrados durante 18 horas. Después se añadieron 2 mg. de borohidruro sódico (Sigma USA) y esta solución fue dializada contra PBS. A cada uno de los conjugados con el antígeno se les añadió, después de la diálisis, seroalbumina bovina al 1% y PBS que contenía 25% de glicerina, hasta alcanzar un volumen total de 2 ml. Esta solución final fue alicuotada y conservada a temperatura de 4 grados centígrados, siendo considerada la solución madre.

2) TECNICA DE ENZIMOINMUNOENSAYO REVERSO (REIA): Se utilizaron placas microtiter (M 24 AR, Dynatech Laboratories, Inc, Alexandria, Va). Se tapizaron las placas con 0,1 ml/pozo de una dilución al 1/100 en PBS de anti IgE humana mono-específica (Tago Laboratoried, Brulingame, calif.), obtenida en cabra, durante 24 horas a 4 grados centigrados, siguiendo procedimientos descritos anteriormente (140) (152) (153). Finalizando este proceso se procedió a incubar 0,05 ml/pozo de suero de los pacientes mezclado con 0,05 ml. de PBS-Tween, manteniendo las placas en agitación durante 18 horas a 4 grados centigrados.

Después de realizar varios lavados con PBS-Tween se añadieron 0,2 ml/pozo de cada uno de los conjugados de antígeno, por duplicado, a una dilución final de 1 g/pozo de peroxidasa en PBS-Tween en 25% suero de ternera fetal (STF), incubándolo durante 1 hora a temperatura ambiente en agitación.

Transcurrido este tiempo y tras realizar nuevos lavados con PBS-Tween se añadió al sustrato, 0,1 ml/pozo constido por una dilución que contenía 2 mg/ml de orto-fenilendiamina (OPD) (Sigma USA) y 0.03% de agua oxigenada en tampón citrato 0,1 M, pH5; manteniéndolo 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se detiene la reacción añadiendo 0,1 ml/pozo de  $S_04 H_2 4N$ , procediéndose a la lectura de las placas en un Titertek-Multiscan (Flow Laboratories, Irvine, Scoland) a 492 nm.

### B) DETERMINACION DE IgG ESPECIFICA

Se determinó mediante técnica de enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA).

Se utilizaron placas microtiter, iguales a las mencionadas para el método REIA. Las placas se incubaron con los antígenos 0,1 ml diluido en PBS a 10 g/ml durante 18 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron las placas con PBS-TW y se añadió a cada pocillo 0,2 ml de PBS-2% BSA, manteniéndolo nuevamente a 37% C durante 1 hora. Después de nuevos lavados con PBS-TW se añadieron por duplicado para



cada antígeno y por pozo 0,1 ml. de suero humano al 1/500 en PBS-TW incubando las placas 1 hora a temperatura ambiente, en agitación.

Transcurrido este tiempo se lavaron las placas con PBS-TW, añadiendo 0,1 ml/pozo de una dilución de Anti IgE humana (Tago, Incs. Brulingame, Calif.) obtenida de cabra diluida al 1/4000 en PBS-TW o,5%-25% suero de ternera fetal y marcada con peroxidasa, incubándolo durante 1 hora a temperatura ambiente en agitación. Se realizaron nuevamente lavados con PBS-TW y finalmente se añadió el sustrato igual al empleado para el REIA. La reacción en tampón citrato 0,1 M. pH5, manteniéndolo 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se detiene la reacción añadiendo 0,1 ml/pozo de SO<sub>4</sub> H<sub>2</sub> 4N, procediéndose a la lectura de las placas de Titertek-Multiscan (Flow Laboratories, Irving, Scotland) a 492 nm (Figura 9) (Fotografías 5 y 6).

### C) CONTROL DE ESPECIFICIDAD PARA IgE ESPECIFICA (REIA INHIBICION)

En algunos pacientes para demostrar la especificidad del método utilizado, se realizó una inhibición del REIA.

A cada pocillo se añadieron 0.05 ml. de los sueros positivos dejando 18 horas a 4 grados centígrados. Después de realizar lavados con PBS-TW se agregó a cada pocillo y por duplicado los distintos antígenos conjugados, en cantidades fijas y antígenos no conjugados en cantidades crecientes, estableciéndose una inhibición de la actividad IgE específica por competición, pudiéndose determinar el porcentaje de inhibición obtenida para cada concentración.

Con algunos enzimas se procedió a estudiar la posible reactividad cruzada con otros enzimas o bien con otros antígenos relacionados. En el caso de la Papaína se estudió la inhibición del REIA obtenida la añadir cantidades crecientes de Bromelina, enzima proteolítico derivado de la piña, y en el caso de la Celulasa y Alfa amilasa se añadieron cantidades crecientes de extractos de los hongos productores de los mismos (a.

niger y a. orizae).

Después de realizar diversos lavados con PBS-Tw se añadió sustrato y se interrumpió la reacción para la lectura.

## 5. PROVOCACION BRONQUIAL INHALATIVA

La realización del test de provocación bronquial tenía por finalidad confirmar el diagnóstico de asma ocupacional en aquellos trabajadores que teniendo test cutáneos positivos e IgE específica para alguno de los enzimas, refería clínica sugestiva de asma ocupacional.

Se realizó en aquellos que voluntariamente aceptaron someterse a este estudio.

Con el fin de confirmar la especificidad de los resultados se realizó igualmente en 10 pacientes con asma bronquial alérgica de otra etiología y en algunos trabajadores expuestos y asintomáticos.

La metodología que seguimos abarca los siguientes pasos:

### A) PREPARACION DEL ANTIGENO

Utilizamos el polvo de los diversos enzimas sin ser sometidos a manipulación alguna.

En cápsulas vacías e idénticas se les agregaba 100 mg. de lactosa, que nos servía como control, y, en el resto de las cápsulas, se utilizaba una mezcla de lactosa y el enzima a probar, en las siguientes proporciones: 0,10mg. del polvo del enzima y 99,90mg. de lactosa; 0,25 mg. de enzima y 99,75 mg. de lactosa y finalmente 99,50 mg de lactosa y 0,50 mg. de enzima, siendo esta última la máxima concentración utilizada.

La cápsula era introducida en un turbo-inhalador (Spinhaler, Fisons Corp. Bedford, Mass) y el polvo era aspirado por el paciente (Fotografía 7) como previamente hemos descrito (70) (79).

### B) REALIZACION DEL TEST DE PROVOCACION BRONQUIAL

El test se realizaba en periodos asintomáticos y durante el tiempo que

duró el estudio, no recibían medicación alguna.

Para la realización de la prueba y el registro de los resultados utilizamos un espirómetro Vitalograph (Fotografía 8).

Se realizaba una espirometría basal, considerando apto al paciente para la realización de la prueba, si tenía un FEV1, igual o superior al 80% del valor predictivo.

Se iniciaba la provocación bronquial con el placebo (cápsula que contenía 100 mg. de lactosa). Si la respuesta era normal se continuaba con las cápsulas que contenían 0,10 mg. de enzima. Si no se producía descenso del FEV1 igual o superior al 20%, valor que considerábamos positivo, continuábamos con las cápsulas de mayor concentración.

Nunca se utilizaban dos concentraciones distintas en el mismo día.

La medida del FEV1 se realizaba cada cinco minutos los primeros 30 minutos, después a los 60 minutos y posteriormente con intervalos de una hora hasta las 8 horas posteriores al comienzo de la prueba.

Como controles se utilizaron 10 pacientes asmáticos atópicos y asintomáticos, no expuestos, y trabajadores asintomáticos expuestos, empleando en ellos las cápsulas que contenían mayor cantidad de enzima.

### C) TEST DE PROVOCACION NASAL

El test de provocación nasal se realizó a algunos pacientes, que presentaban sintomatología nasal o nasal y bronquial. Se encontraban en periodo asintomático y sin medicación

Después de realizar una exploración nasal mediante rinoscopia anterior y comprobar el normal estado de permeabilidad nasal, se aplicaba una gota de P.B.S. en un orificio nasal. Si no se producía ninguna respuesta, a los 30' se iniciaba la provocación con

el antígenos en solución acuosa, comenzando por la dilución mayor que produjo una respuesta cutánea positiva en Prick Test.

Se valoraba la respuesta desde 1/2 minuto a los 30' considerándola positiva cuando aparecían estornudos en salvas hidrorrea y obstrucción nasal en el orificio nasal testado. Si la respuesta es negativa, a la hora se repite el test aplicando una gota de la dilución 10 veces mayor que la anterior.

Si algún paciente refería sintomatología nasal en las horas posteriores, se repetía la prueba a los 7 días, utilizando una concentración del antígeno por día.

Se realizaron igualmente provocaciones nasales en pacientes con rinitis alérgicas de otra etiología y en trabajadores expuestos y asintomáticos, que sirvieron de popio controleo.

## 6.- METODOLOGIA ESTADISTICA

Sobre una muestra de 83 individuos se ha realizado un estudio estadístico, tanto descriptivo como analítico de las variables que se han valorado en dicha muestra, así como de los grupos o subgrupos que se han realizado.

En el estudio descriptivo se ha obtenido, de todas las variable cuantitativas, la media, la desviación típica, el error standard, los valores máximos y mínimos y el rango. De las variables cualitativas se ha obtenido la frecuencia absoluta de cada una de las categorías de la variable y la frecuencia porcentual de las mismas en todos los casos.

El estudio estadístico se ha basado, para las variables cuantitativas, en la comparación de medias en el caso de que siguieran una distribución normal y la prueba de Mann-Whitney cuando el ajuste a una curva de Gauss no existía y la muestra era pequeña.

Igualmente se ha estudiado la posible relación entre variables cuantitativas mediante el cálculo de los coeficientes de correlación y su significación.

La posible relación de variables cualitativas se ha probado mediante la prueba del chi cuadrado ( $\chi^2$ ) utilizando la corrección de Yates y la prueba exacta de Fisher cuando algunas de las casillas teóricas fue menor de 5 en las tablas de 2x2. Cuando se trató de comparar categorías se utilizó la prueba de comparación de porcentajes.

Previo al estudio analítico se comprobó la bondad del ajuste a una distribución normal utilizando el test de Kolmagorov-Smirnov.

Para realizar el estudio estadístico, se codificaron previamente todas las variables y posteriormente se pasaron los datos a un fichero de ordenador creado para tal fin. Las pruebas efectuadas se han realizado mediante el programa conversacional SIGMA del prof. Carrasco de la Peña, utilizando como soporte informático un ordenador personal IBM-XT de 256 K de memoria Ram (155).

## **7.- TABLAS, FOTOGRAFÍAS Y FIGURAS**

## TABLA VII

## CUESTIONARIO DE ASMA OCUPACIONAL

I.- Nombre . . . . .

Edad . . . . . Dirección . . . . .

Teléfono . . . . .

Antecedentes personales. ALERGICOS

Rinitis

Fiebre del heno

Alergia a medicamentos

Urticaria

Otros

NO ALERGICOS

Antecedentes familiares ALERGICOS

II.-

1) Tiempo que lleva trabajando en la fábrica: . . . . .

2) Zonas de la fábrica en las que ha trabajado y zona en la que trabaja actualmente . . . . .

3) Tiempo que ha trabajado en cada zona: . . . . .

III.- ¿Nota algunos de estos síntomas?:

Picor de ojos . . . . . Lagrimeo . . . . . Obstrucción nasal . . . . .

Estornudos . . . . . Agüilla . . . . . Picor de nariz . . . . .

Tos . . . . . Opresión en el pecho . . . . . Pitidos en el pecho . . . . .

Dificultad para respirar . . . . . Crisis de fatiga . . . . .

Lesiones en la piel . . . . . Otros . . . . .



IV.- ¿Desde cuándo tiene estas molestias? . . . . .

V.- ¿Cuándo presenta las molestias? ¿Cuándo las presenta con mayor intensidad?:

En la fábrica . . . . . ¿En qué zonas de la fábrica? . . . . .

En casa por la tarde . . . . . En casa por la noche . . . . .

¿En qué época del año esta peor? . . . . .

¿Como se encuentra en vacaciones? . . . . .

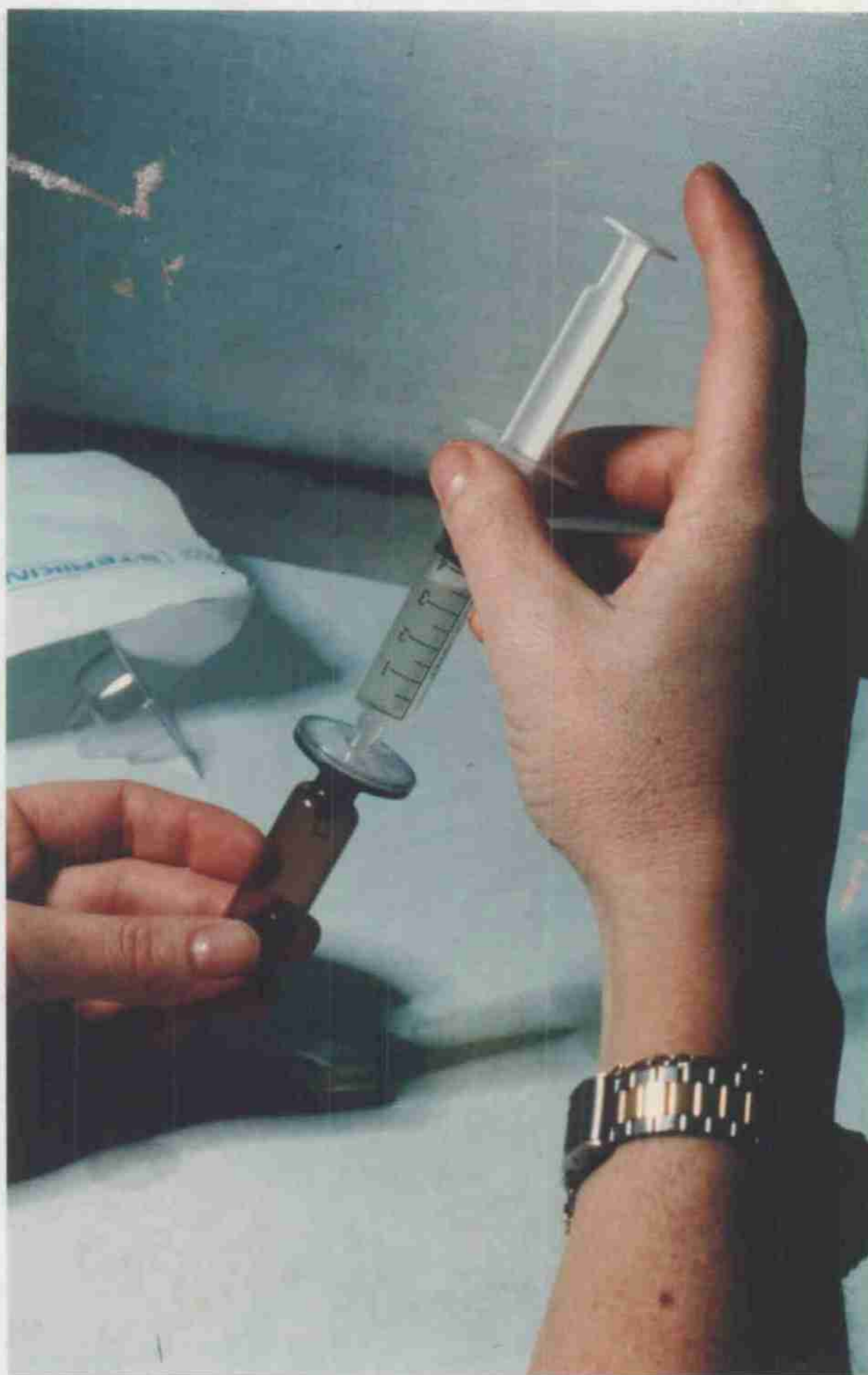
**FOTOGRAFIA 2:**

**DIALISIS DEL EXTRACTO DURANTE 24 HORAS A 4 GRADOS CENTIGRADOS**



FOTOGRAFIA 3:  
FILTRACION DEL EXTRACTO.



**FOTOGRAFIA 4:****ESTERILIZACION DEL EXTRACTO MEDIANTE FILTRO MILLIPORE**

FOTOGRAFIA 5:  
CONTADOR GAMMA.



**FOTOGRAFIA 6:**

**TITERTEK MULTISKAN PARA LECTURA DE DENSIDADES OPTICAS DE MICROPLACAS DE ELISA**



**FOTOGRAFIA 7:**

**POLVO DE DIVERSOS ENZIMAS PARA PREPARAR EXTRACTOS DIAGNOSTICOS Y SPINHALER EN EL QUE SE ACOPLA UNA CAPSULA CON EL POLVO DEL ENZIMA.**



**TABLA VIII**

**PROTOCOLO DE TEST CUTANEOS**

**CONCENTRACIONES DE ANTIGENO**

10% p/v

CELULASA : . . . . .	1/10
. . . . .	1/100
. . . . .	1/1000
. . . . .	1/10000
LIPASA : . . . . .	1/10
. . . . .	1/100
. . . . .	1/1000
. . . . .	1/10000
ALFA-AMILASA (f): . . . . .	1/10
. . . . .	1/100
. . . . .	1/1000
. . . . .	1/10000
PAPAINA : . . . . .	1/10
. . . . .	1/100
. . . . .	1/1000
. . . . .	1/10000
BROMELINA : . . . . .	1/10
. . . . .	1/100
. . . . .	1/1000
. . . . .	1/10000



ALFA-AMILASA : . . . . . 1/10  
( P. cerdo ) . . . . . 1/100  
. . . . . 1/1000  
. . . . . 1/10000

TRIPSINA : . . . . . 1/10  
( P. cerdo ) . . . . . 1/100  
. . . . . 1/1000  
. . . . . 1/10000

Controles: . . . . . Histamina 1/100  
. . . . . PBS

Lectura: a los 15 minutos y a las seis horas

FIGURA 8

## ESQUEMA DE LA TECNICA DE ENZIMOINMUNOENSAYO REVERSO (REIA)

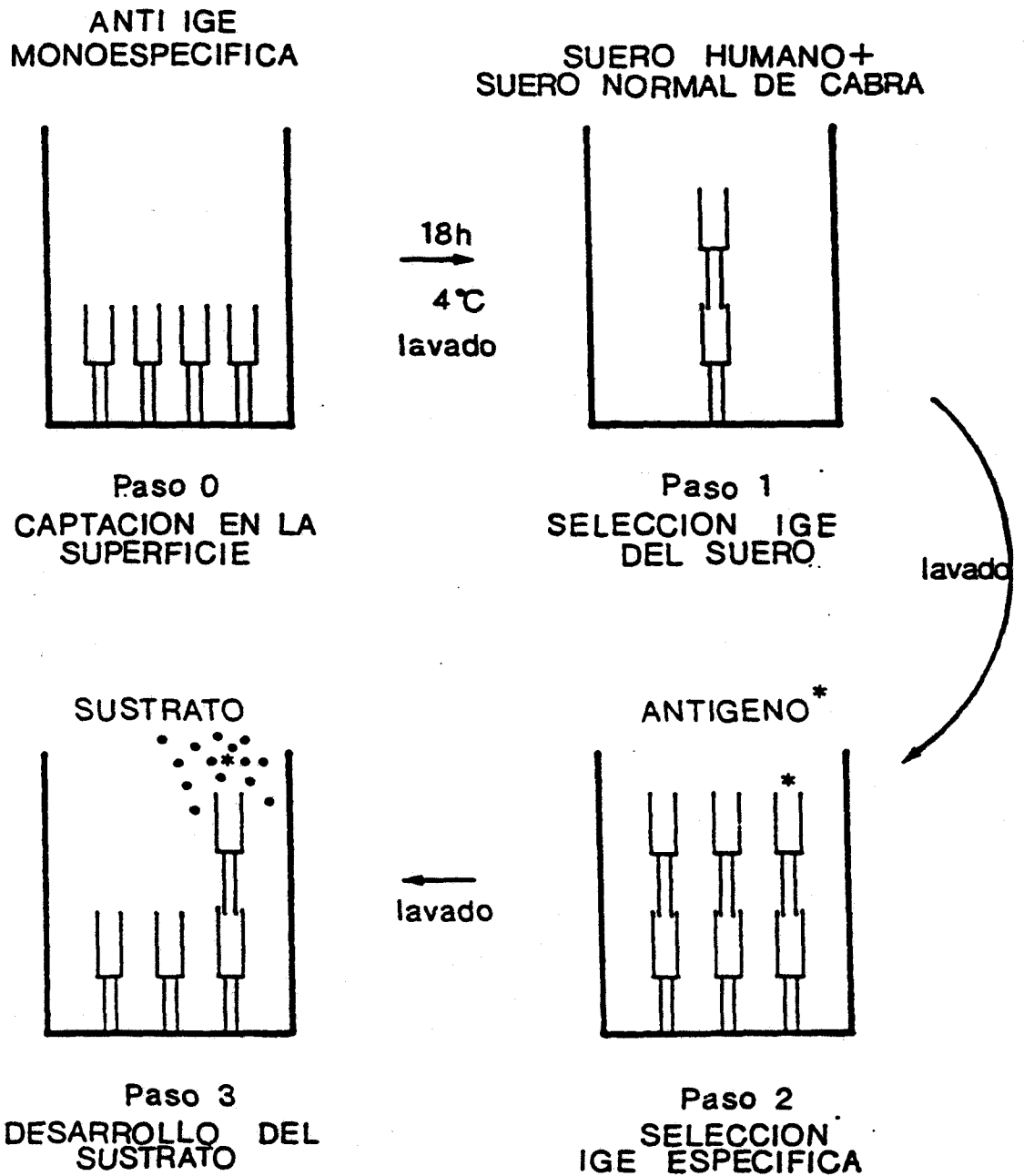
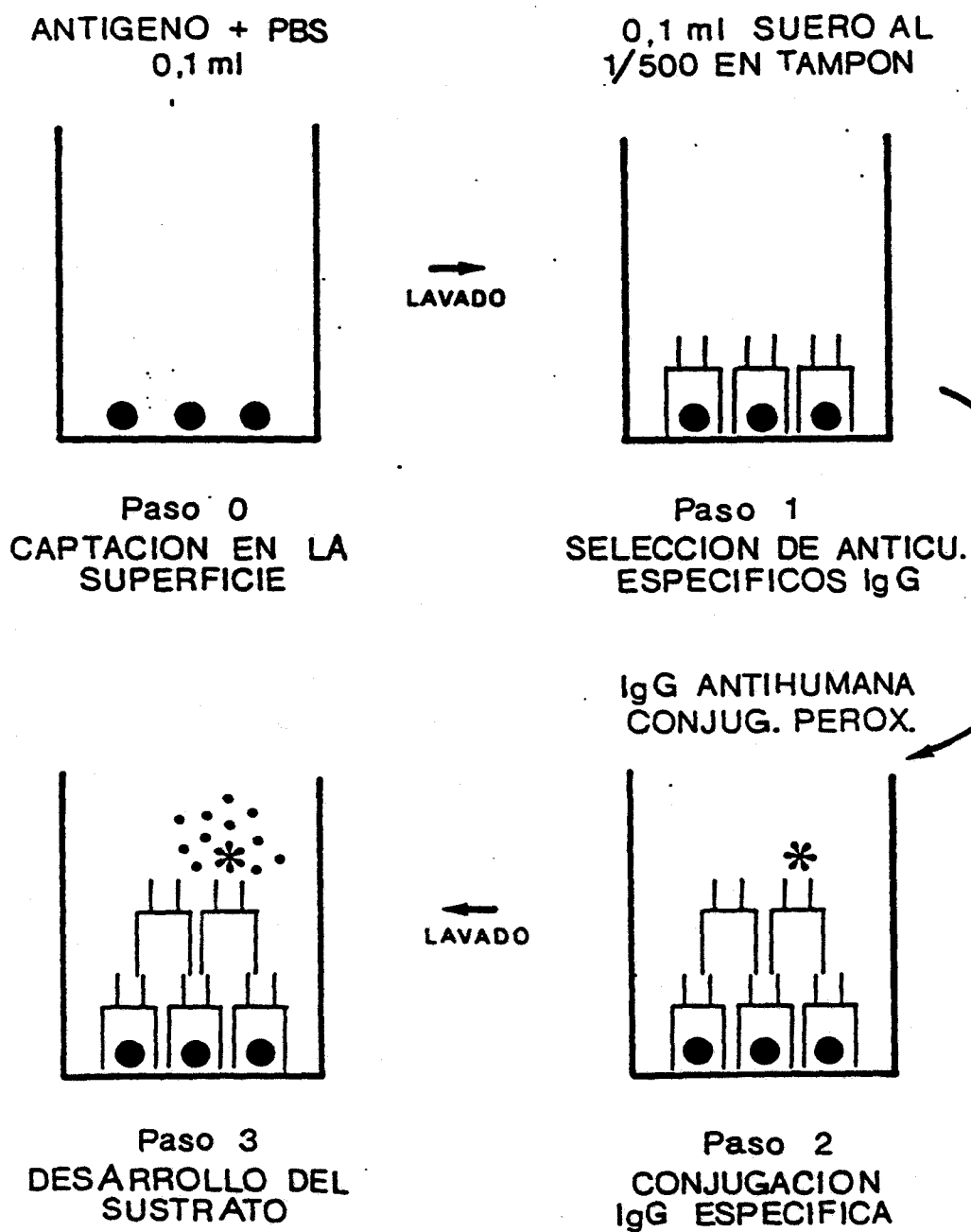


FIGURA 9

## ESQUEMA DE LA TECNICA ELISA



**FOTOGRAFIA 8:****ESPIROMETRO VITALOGRAPH CONECTADO A UN ORDENADOR APPEL**

**CAPITULO III**

**RESULTADOS**

## RESULTADOS

### I. ESTADISTICA DESCRIPTIVA

#### 1. CUESTIONARIO CLINICO

El estudio de los cuestionarios clínicos cumplimentados por los trabajadores nos permitía conocer la edad, el sexo, la existencia o no de antecedentes personales o familiares atópicos, la zona de la fábrica donde trabajaba, el tiempo y el grado de exposición, la sintomatología existente, así como su relación con el medio laboral, etc.

a) Sexo y edad: De los 83 trabajadores motivo de este estudio, 72 mujeres y 11 varones, lo que representa un porcentaje de hembras del 86,7% y de varones del 13,3%.

Las edades estaban comprendidas entre los 19 y 63 años con una media de 29,8 años (Figuras 10, 11).

b) Antecedentes personales: La existencia de antecedentes personales atópicos era positiva en 25 trabajadores (31,3%) y negativa en 55 (68,8%). Tres trabajadores no contestaron (Figura 12).

c) Antecedentes familiares: En el 23,7% existen antecedentes familiares atópicos (19 trabajadores) y era negativo en el 76,2% (61 trabajadores), el resto no contestaban. (Figura 13).

d) Tiempo de trabajo: La media del tiempo que llevaban trabajando en dicho laboratorio farmacéutico era de 9.53 años con una desviación típica de 3,7583 y unos valores extremos de 3 y 17 años.

e) Grado de exposición: Se utilizan criterios arbitrarios para cuantificar el grado de exposición dependiendo de la zona en la que habitualmente realizaban su trabajo. Se clasificaban en exposición alta, media o baja, en relación con la proximidad de su

puesto de trabajo con la zona de producción de los enzimas mencionados. Los trabajadores incluidos en el grupo de exposición alta realizaban su trabajo en la zona de producción y los considerados como de exposición baja trabajaban fundamentalmente en zonas alejadas y que sólo accidentalmente y por corto espacio de tiempo podía tener contacto con el polvo de dichos enzimas. Los trabajadores incluidos en el grupo de exposición media tienen contactos con dichos enzimas pero de forma no intensa ni prolongada.

Evidentemente esta separación arbitraria podía incluir en el grupo de exposición media a personas que en algún momento podían tener una exposición mayor y próxima al grupo de exposición alta.

A pesar de las variabilidades personales que podían acontecer en un grupo tan numeroso, era importante hacer esta valoración, especialmente a la hora de recoger la presencia de sintomatología y su posible relación con el grado de exposición.

Contestaron 80 trabajadores a este apartado, de los cuales, siguiendo los criterios expuestos, 38 correspondían al grupo de exposición alta (47,5%), 27 fueron encuadrados en el grupo exposición media, lo que representa el 33,70%, y 15 fueron incluidos en el grupo de exposición baja, lo que supone el 18,80% (Figura 14).

En el grupo de exposición alta (38 trabajadores) la media del tiempo que estuvieron sometidos a dicha exposición fue de 7,75 años con una desviación típica de 4,058 y unos valores extremos de 1 y 15 años.

En el grupo de exposición media (27 trabajadores) la media del tiempo de exposición fue de 9,5 años, con una desviación típica de 3,80; los valores extremos fueron de 3 y 15 años.

En el grupo de baja exposición, en total 15 trabajajadores, el tiempo medio fue de 11 años, con una desviación típica de 3,66 años y unos valores extremos de 3 y 17 años. (Figuras 15, 16, 17).

f) Sintomatología clínica: El cuestionario pretendía recoger la existencia o no de síntomas nasales, bronquiales u otras manifestaciones, que pudieran tener relación con el medio laboral.

La existencia de síntomas nasales, obstrucción, estornudos, prurito o secrección nasal se detectó en 47 trabajadores (58.75%); en 33 trabajadores no existían síntomas nasales (41.25%) y 2 trabajadores no contestaron.

En la recogida de síntomas respiratorios bronquiales se valoraba la existencia de tos, sibilancias o disnea. Contestaron 80 trabajadores y en 24 de ellos se recogía la existencia de estos síntomas, lo que representa el 30% y eran negativos en 56 trabajadores (70%).

Los 24 trabajadores que referían presentar síntomas bronquiales presentaban igualmente síntomas nasales, lo que hacía que con síntomas nasales exclusivos existían solo 23. (28.75%) (Figuras 18,19)

Solo 40 trabajadores contestaron al cuestionario respecto al tiempo que llevaban con la sintomatología recogida. El valor medio del tiempo que llevan con síntomas fue de 3,97 años, con una desviación típica de 3,05 y unos valores extremos de 1 y 11 años (Figura 20).

Se valoró la posible relación de la sintomatología referida con el medio laboral, con su domicilio, y con alguna época estacional determinada. 41 trabajadores referían que sus síntomas se relacionaban con el medio laboral (52,6%) y en 37 (47,4%) no señalaban dicha relación. La posible relación con su domicilio era señalado por 25 trabajadores (31,6%) y en 54 (61,4%) no se hacía referencia a esta relación.

Respecto a la posible relación estacional, 7 (8,9%) trabajadores referían predominio estacional y en 72 (91,1%) no existía relación estacional.



## 2. TEST CUTANEOS

### A) PRICK TEST

Siguiendo la metodología descrita en Material y Métodos, se realizaron Test Cutáneos con los enzimas a los que estaban expuestos, Celulasa, Lipasa, Alfa Amilasa (F) y Papaina.

Se realizaron igualmente test cutáneos con otros enzimas a los que no estaban expuestos, como Bromelina (derivada de la piña) y con Tripsina y Alfa Amilasa prededentes de páncreas de cerdo.

La metodología para la preparación del extracto diagnóstico fue la misma que la empleada con los otros enzimas.

Las positividades obtenidas en los test cutáneos con los enzimas mencionados fueron los siguientes: (Tabla IX).

a) Celulasa: De los 83 trabajadores testados, en 4 se encontraron test cutáneos positivos con este enzima (4,8%). En 79 (95,2%) eran negativos.

b) Lipasa: En 7 trabajadores de los 83, encontramos test cutáneos positivos (8,4%) y en 76 (91,6%) eran negativos

c) Alfa Amilasa (F): Con la alfa amilasa que utilizaban en el trabajo, los test cutáneos fueron positivos en 26 trabajadores (31,3%) y negativos en 57 (68,7%).

d) Papaína: Aparecían positividades en 26 trabajadores (31,3%) y eran negativos a 57 (68,7%).

e) Bromelina: 18 trabajadores presentaban test cutáneos positivos con este enzima (21,7%) y en 65 (78,3%) eran negativos.

f) Alfa Amilasa (C): Aparecían positividades en 9 trabajadores (10,8%) y

eran negativos en 74 (89,2%).

g) Tripsina: En 7 trabajadores los cutáneos con éste enzima fueron positivos (8,4%) y en 76 negativos (91,6%).

A todos los trabajadores se les realizó, como hemos mencionado anteriormente, test cutáneos (Prick Test) con una bacteria de alergenos inhalantes habituales con el fin de detectar un estado atópico. Los resultados fueron los siguientes:

En 8 trabajadores se objetivó la existencia de test cutáneos positivos con una mezcla de gramíneas, lo que representa el 9,6% de la muestra. En 2 pacientes existía además sensibilización a polen de olivo.

En 4 trabajadores se demostró sensibilización a ácaros (D. Pteronyssinus) (4,6%) y en dos existía sensibilización cutánea a epitelio de gato (2,4%).

El control negativo (PBS) fue negativo en toda la muestra y el control positivo (Histamina) fue positivo en todos los trabajadores. (Figuras 21, 22, 23, 24) (Fotografías 9, 10, 11).

### B) TRANSFERENCIA PASIVA (P-K.):

En algunos trabajadores se realizó transferencia pasiva, siguiendo la metodología descrita, obteniéndose positividad con diversos enzimas, lo que confirmaba que la sensibilización era debida a un anticuerpo IgE. El calentamiento del suero por encima de 56 grados negativizaba la reacción positiva. (Fotografía 12) (Figuras 25, 26).

## 3. TEST "IN VITRO"

### A) IgE ESPECIFICA:

Siguiendo la metodología descrita se determinó la existencia de IgE específica frente a los diversos enzimas.

Los resultados obtenidos son los siguientes, valorados en O.D. (Densidades Opticas). Tabla X.

a) Celulasa: El valor medio de todos los sueros (82 trabajadores) fue de 0,1060, con una desviación típica de 0,42. Los valores extremos de la muestra con un rango entre 0,005 y 3,8.

b) Lipasa: Se obtuvo un valor medio de 0,323 con una desviación típica de 0,15896 en las 82 muestras estudiadas, con un rango entre 0 y 1,4.

c) Alfa Amilasa (F): Fue determinada en los 82 trabajadores obteniéndose un valor medio de 0,6321 con una desviación típica de 1,9435 y un valor mínimo de 0,011 y un valor máximo de 12,968.

d) Papaína: Se determinó en los 82 trabajadores obteniéndose un valor medio de 0,68828 con una desviación típica de 1,9353 y un rango de valores extremos 0 y 10,536.

e) Bromelina: Fue determinada en los 82 trabajadores de la muestra. El valor medio obtenido fue de 0,1470 con una desviación típica de 0,4527 y un rango variable entre 0 y 3,9.

f) Alfa Amilasa (C): Fue determinada en 80 trabajadores obteniéndose un valor medio de 0,0421 con una desviación típica de 0,0339 y unos valores extremos que oscilaban entre 0 y 0,276.

g) Tripsina: Fue determinada en los 82 trabajadores El valor medio obtenido fue de 0,0382 con una desviación típica de 0,0702 y un rango con valores extremos de 0 y 0,457.

Como controles se utilizaron los sueros de 50 personas sanas y no expuestas, y 50 pacientes con asma bronquial alérgica y no expuestos. Los valores obtenidos

en los mismos para los distintos enzimas están reflejados en la Tabla X.

Se consideraron arbitrariamente como positivos los valores superiores a 0,150 O.D.

De la muestra de trabajadores se realizaron dos grupos. Uno formado por los que tenían test cutáneos positivos y otro grupo por los que tenían test cutáneos negativos. En ambos se determinaron los valores medios y la desviación típica de la IgE para cada enzima, obteniéndose los resultados reflejados en la Tabla XI.

### B) IgG ESPECIFICA

Se determinó siguiendo la metodología descrita, valorándose los resultados en O.D. los valores obtenidos fueron los siguientes (tabla XII).

a) Celulasa : El valor medio de la IgG específica por este enzima en los 82 trabajadores estudiados fue de 0,44494 con una desviación típica de 0.6128 y unos valores extremos de 0.102 y 4.576.

b) Lipasa : Se estudió en 81 trabajadores, obteniéndose un valor medio de 0.1524 con una desviación típica de 0.851. Los valores extremos de la muestra eran de 0 y 0.412.

c) Alfa Amilasa (F) : El estudio de las 82 muestras dio un valor medio de 0.6575 con una desviación típica de 0.4064 y unos valores extremos de 0.161 y 2.200.

d) Papaína : En las 82 muestras estudiadas se obtuvo un valor medio de 0.4303 con una desviación típica de 0.8590. Los valores extremos de la muestra eran de 0.028 y 5.600.

e) Bromelina : Se obtuvo un valor medio de 0.5429 con una desviación típica de 0.1879 y unos valores extremos de 0.155 y 1.204.

f) Alfa Amilasa C: El valor medio fue de 0.2686, con una desviación tí-

pica de 0.2986 y unos valores extremos de 0.03 y 2.452.

g) Tripsina : El valor medio fue de 0.0978 con una desviación típica de 0.0436 y unos valores extremos de 0.034 y 0.282.

Como controles se utilizaron los mismos grupos que mencionamos anteriormente y sus valores medios para cada enzima estan reflejados e la Tabla XII. Se consideraron como positivos los valores superiores a 0.150 O.D.

Se realizaron igualmente 2 grupos con los pacientes que tenían test cutáneos positivos y test cutáneos negativos. Los resultados quedan reflejados en la Tabla XIII.

### C) REACTIVIDAD CRUZADA

Siguiendo la metodología descrita anteriormente (REIA inhibición), se pudo demostrar la existencia de reactividad cruzada entre Papaína y Bromelina, asi como entre Celulasa y el hongo productor (A. Niger), pero no entre el resto de los enzimas. (Figuras 27, 28, 29).

#### **4. TEST DE PROVOCACION INHALATIVA**

Siguiendo la metodología mencionada, se realizaron provocaciones bronquiales a un número variable de trabajadores voluntarios, que presentaban o clínica respiratoria bronquial o test cutáneos positivos con los enzimas mencionados.

En algunos casos, independientemente del resultados de la provocación bronquial, se realizó provocación nasal. Estos trabajadores presentaban igualmente clínica respiratoria bronquial y nasal o exclusivamente nasal.

Se pretendía, en definitiva, comprobar la respuesta del órgano del choque al alergéno sospechosamente responsable de su cuadro clínico.

En algunos casos se estudió la modificación de la respuesta bronquial al tratamiento preventivo con C.G.D.S.

Los resultados obtenidos con los distintos enzimas fueron los siguientes:

a) Celulasa:

Se realizaron test de provocación bronquial en 6 trabajadores siendo el resultado positivo en 3 y negativo en otros 3. Todos referían clínica respiratoria pero solo en 3 los test cutaneos eran positivos.

En 2 trabajadores de los 6 se realizó provocación nasal, siendo positiva en 1 y negativa en otro. El trabajador con provocación nasal positiva había tenido la provocación bronquial negativa, resultando por tanto la provocación inhalativa positiva en 4 trabajadores de los 6 en que se realizó.

La respuesta bronquial fue en todos aquellos de tipo inmediato y el pretratamiento con C.G.D.S. disminuyó considerablemente su intensidad (Figuras 30, 31).

b) Lipasa:

Solamente se realizó provocación bronquial en un trabajador siendo el resultado positivo (Figura 32). Refería clínica respiratoria y presentaba test cutáneos positivos para este enzima.

No se realizó provocación nasal en ningún trabajador.

c) Alfa Amilasa (F):

Con Alfa Amilasa que utilizaban en su trabajo, se realizó provocación bronquial en 14 trabajadores, que tenían test cutaneos positivos, siendo el resultado positivo en 6 (42,95%) y negativo en 8 (57,1%). En todos ellos se obtuvo respuesta inmediata (Figuras 33, 34).

En 2 de los que tenían test bronquial positivo, se repitió el test tras la administración de C.G.D.S., siendo inhibida, en uno de ellos, la respuesta de forma considerable (Figura 34).

El test de provocación nasal se realizó en 11 trabajadores, siendo el resultado positivo en 6 (54,5%) y negativo en 5 (45,4%). De estos 6 trabajadores con test nasal positivo, 2 tenían el test bronquial positivo, en 2 el test bronquial era negativo y en otros 2 no se había realizado.

En resumen se habían realizado provocaciones bronbronquiales o nasales en 18 trabajadores, siendo positivo en 10 trabajadores el test inhalativo nasal o bronquial (55,5%). No se realizaron provocaciones inhalativas en trabajadores con test cutaneos negativos.

d) Papaína:

Se realizaron provocaciones bronquiales en 14 trabajadores siendo el resultado positivo en 9 (64,2%). Todos tenían test cutaneos positivos y clínica respiratoria.

En todos los casos se obtuvo respuesta inmediata y en algunos de ellos el tipo de respuesta fue dual. El pretratamiento con C.G.D.S. modificaba ambas respuestas. (Figuras 35, 36, 37).

El test de provocación nasal se realizó en 11 trabajadores siendo positivo en 10 (90,9%). Presentaban igualmente test cutáneos positivos y clínica respiratoria.

De los 5 trabajadores que tenían test bronquiales negativos, en 4 el test nasal fue positivo y solo en 1 trabajador ambos test fueron negativos.

En otro trabajador, al que no se le había realizado test de provocación bronquial, se le realizó test de provocación nasal que fue positivo.

En resumen se realizaron test inhalativos en 15 trabajadores, siendo positivo en 14 (93,4%). Se realizaron provocaciones inhalativas en tres trabajadores que presentaban test cutáneos negativos. En uno de ellos que refería clínica respiratoria, el resultado de la provocación bronquial fue positivo. En los otros 2, se realizó provocación nasal que fue negativa en ambos.

e) Bromelina:

Se realizaron provocación bronquial en 8 trabajadores, con test cutáneos positivos, en 5 de los cuales el test fue positivo (62,5%).

En 5 casos existía respuesta de tipo inmediato y uno de ellos presentó una respuesta dual (Figuras 38, 39).

La provocación nasal se realizó en 5 trabajadores, sensibilizados a dicho enzima, siendo positiva en 2, ambos habían tenido test de provocación bronquial negativo.

En resumen el número de trabajadores testados con cualquiera de los test inhalativos fue de 10 siendo el resultado positivo con cualquiera de los test en 7 (70%). En 5 trabajadores sintomáticos, pero con test cutáneos negativos, se realizó provocación bron-



quial, que fué positiva en uno de ellos.

Como controles se utilizaron 10 asmáticos atópicos no expuestos, en todos ellos la provocación inhalativa fue negativa.

## II. ESTADISTICA ANALITICA

De los resultados obtenidos y referidos en el apartado de Estadística Descriptiva, era de capital importancia relacionar entre sí los hallazgos más significativos para los objetivos de ésta Tesis. ¿ La presencia de sintomatología clínica en relación con el medio laboral, está relacionada con la existencia de sensibilización a los enzimas a los que están expuestos ? ¿ Se confirma esta relación con la existencia de provocaciones inhalativas positivas ? ¿ La presencia de IgE o IgG específica es significativamente más elevada en los trabajadores sensibilizados y con clínica respiratoria que en los asintomáticos o en los controles ?. ¿ En qué medida influye la existencia o no de antecedente atópicos ? ¿ Y el grado de exposición ?.

Esta y otras interrogantes pueden ser contestadas al relacionar entre sí los siguientes parámetros.

## 1. CUESTIONARIO CLINICO

### A) SINTOMATOLOGIA CLINICA-GRADO DE EXPOSICION

Un aspecto importante, en la patología que nos ocupa, es valorar si el grado de exposición favorece la aparición de sintomatología clínica. En este sentido hicimos dos grupos con los trabajadores sintomáticos; uno con los trabajadores que presentaban únicamente síntomas nasales y otro con los trabajadores que presentaban síntomas bronquiales. Los resultados fueron los siguientes:

a) Sintomatología nasal: De los 47 trabajadores que referían esta sintomatología, en 28 trabajadores el grado de exposición era alto, en 15 la exposición fue calificada de media y en 4 la exposición era baja.

b) Sintomatología bronquial: De los 24 trabajadores que presentaban sintomatología bronquial, en 17 el grado de exposición era alto, en 5 trabajadores era media y solamente 2 trabajadores estaban sometidos a una exposición baja. (Tablas XIV-XV).

Utilizando el  $\chi^2$  para el análisis en ambas muestras nos encontramos con que ambas asociaciones son estadísticamente significativas, con  $p < 0.01$ , en el caso de los síntomas nasales y con  $p < 0.05$  para los síntomas bronquiales.

### B) SINTOMATOLOGIA CLINICA-ANTECEDENTES PERSONALES

#### ALERGICOS

Interesaba analizar si la presencia de antecedentes atópicos favorece la aparición de patología laboral alérgica.

De los 47 trabajadores con síntomas nasales presentaban antecedentes alérgicos 21 (44,6%), no encontrándose antecedentes alérgicos en 26. Se utilizó la prueba del  $\chi^2$  encontrándose diferencias estadísticamente significativa con  $p < 0.01$  (tabla XVI).

De los 24 trabajadores que presentaban síntomas bronquiales, 13 tenían

antecedentes alérgicos (54,4%) y no existían dichos antecedentes en 11. Utilizando el  $\chi^2$  para el estudio de esta muestra, encontramos una asociación estadísticamente significativa con  $p < 0.05$ . (Tabla XVII).

### C) SINTOMATOLOGIA CLINICA-TEST CUTANEOS

¿ La presencia de sitomatología respiratoria, que los trabajadores relacionaban en el cuestionario clínico con su entorno laboral, estaba asociada a la presencia de test cutáneos positivos con alguno de los enzimas ?.

Esta posible asociación era de gran importancia y nos daría información sobre el papel que los enzimas, a los que estaban expuestos, jugaban en la etiopatogenia de su patología.

En 47 trabajadores se recogía la existencia de síntomas nasales y 24 de ellos, además presentaban síntomas bronquiales sugestivos de asma ocupaciona. Sin embargo solamente en 36 se había demostrado la existencia de sensibilización cutánea a algunos de los enzimas testados.

En los 47 trabajadores que presentaban síntomas nasales existían test cutáneos positivos para Celulasa en 4, para Lipasa en 7, para Alfa Amilasa (F) en 20, para Papaína en 26, para Bromelina en 16, para Tripsina en 7 y para Alfa Amilasa (C) en 9. (Tabla XVIII). En 18 trabajadores de este grupo no se demostró sensibilización cutánea para ninguno de los enzimas testados, por tanto sólo 29 trabajadores de los 47 tenían test cutáneos positivos, lo que representa el 60%.

En el grupo de 24 que referían sintomatología bronquial, se obtuvieron test cutáneos positivos con Celulasa en 3, con Lipasa en 6, con Alfa Amilasa (F) en 12, con Papaína en 17, con Bromelina en 11, con Tripsina en 6 y con Alfa Amilasa (C) en 9.

No se demostró sensibilización cutánea en 6 trabajadores (casos 2, 28, 40, 51, 70 y 78). Por tanto de los 24 trabajadores que presentaban síntomas bronquiales en

18 existía sensibilización cutánea frente a algunos de los enzimas testados (75%). (Tabla XIX)

## 2. TEST CUTANEOS

### A) TEST CUTANEOS-ANTECEDENTES PERSONALES ALERGI- COS

Se ha descrito que la existencia de antecedentes atópicos facilita o favorece la aparición de nuevas sensibilizaciones y, en la patología que nos ocupa, se ha demostrado también que la existencia de atopia es un factor predisponente para la sensibilización a alérgenos ocupacionales.

En nuestro trabajo, interesaba analizar la posible asociación entre test cutáneos positivos para los mencionados enzimas y antecedentes alérgicos. Se utilizó para el estudio la prueba exacta de FISHER con los siguientes resultados:

a) Celulasa: De los 4 trabajadores que presentaban test cutáneos positivos, en 3 existían antecedentes personales alérgico ( $p < 0.1$  casi significativo) (Tabla XX-I).

b) Lipasa: Existían 7 trabajadores con test cutáneos positivos y en 5 de ellos había antecedentes alérgicos ( $p < 0.1$  casi significativo) (Tabla XX-II)

c) Alfa Lipasa (F): De los 26 trabajadores sensibilizados a este enzima en 13 existían antecedentes alérgicos (significativo con  $p < 0.01$ ) (Tabla XXI-I).

d) Papaína: De los 26 trabajadores que tenían test cutáneos positivos en 15 existían antecedentes alérgicos. (significativos con  $p < 0.001$ ) (Tabla XXI-II)

e) Bromelina: De 18 trabajadores con test cutáneos positivos, en 9 existían antecedentes alérgicos ( $p < 0.1$ , casi significativo). (Tabla XXII-I).

f) Alfa Amilasa (C): En 7 trabajadores, de los 9 que tenían test cutáneos positivos, existían antecedentes alérgicos (significativo con  $p < 0.01$ ) (Tabla XXII-II).

g) Tripsina: Referían antecedentes alérgicos 5 de los 7 trabajadores que

presentaban test cutáneos positivos. (significativo con  $p < 0.05$ ). (Tabla XXII-III).

### B) TEST CUTANEOS-GRADO DE EXPOSICION

Es importante dilucidar si el grado de exposición facilita la sensibilización a las sustancias expuestas.

Dada la escasez de la muestra de test cutáneos positivos para alguno de los enzimas, no se pudieron relacionar ambos parámetros para un enzima determinado. Ahora bien, si consideramos el número total de trabajadores sensibilizados, cualquiera que fuese el enzima o los enzimas mas responsables, si que se pudo establecer una asociación entre ambos factores. Se utilizó para el estudio la fórmula del  $\chi^2$ , obteniendose los siguientes resultados.

De los 36 trabajadores con test cutáneos positivos, 23 estaban sometidos a un grado de exposición alta, 9 pertenecían al grupo de exposición media y sóloamente 4 correspondían al grupo de exposición baja. La Tabla XXIII refleja estos resultados. Se pudo demostrar una asociación significativa entre grado de exposición y sensibilización cutánea con  $p < 0.05$ .

### C) TEST CUTANEOS-SINTOMATOLOGIA CLINICA

Valorar si la existencia de test cutáneos positivos se asociaba o no a la presencia de sintomatología clínica, era de vital importancia. En la Tabla XXIV se recogen los trabajadores que tenían test cutáneos positivos con alguno de los enzimas y la existencia o ausencia de sintomatología respiratoria.

Para el análisis de ésta asociación se utilizó la prueba exacta de Fisher y los resultados quedan reflejados en las Tablas XXV, XXVI, XXVII.

En todos los enzimas, excepto para la Celulasa, se confirmó la existencia de una asociación entre test cutáneos positivos y sintomatología nasal existiendo diferen-

cias estadísticamente significativas con  $p < 0.05$  a  $p < 0.01$ .

En el caso de los síntomas bronquiales se estableció la misma asociación, quedando reflejados los resultados en las Tablas XXVIII, XXIX y XXX. Para todos los enzimas se encontró una asociación significativa entre síntomas bronquiales y test cutáneos positivos, existiendo una diferencia estadísticamente significativa con  $p < 0.01$  a  $p < 0.001$ , excepto con Celulasa.

En 6 trabajadores sensibilizados a alguno de los enzimas no se recogía la existencia de síntomas respiratorios (nº. 8, 23, 50, 71, 75, 83) y un caso (nº.42) no contesta. (Tabla XXIV ya citada).



### 3. TEST "IN VITRO"

#### A) IgE ESPECIFICA

##### a) IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS:

En la Tabla XI se recogen los valores medios y la desviación típica de la IgE en los grupos de trabajadores con test cutáneos positivos y negativos.

Parecía incuestionable que deberían existir diferencias significativas en ambos grupos. Se utilizó para el análisis de la muestra la prueba de MANN-WHITNEY, encontrándose diferencias estadísticamente significativas, con  $p < 0.001$  para Papaína y Alfa Amilasa (F); con Bromelina fue igualmente significativo, con  $p < 0.01$ , y con Lipasa fue casi significativo ( $p < 0.1$ ). No se encontraron diferencias significativas con la Tripsina ni con la Alfa Amilasa (C). En el caso de la Celulasa, dada la escasez de la muestra, no pudo ser procesada.

Cuando intentamos asociar la existencia de IgE Específica positiva con la presencia de test cutáneos positivos con cada uno de los enzimas, se obtuvieron los resultados reflejados en las Tablas XXXI a XXXV. Para éste estudio se utilizó la prueba exacta de FISHER y la prueba del chi 2. Se encontró que existía una asociación significativa entre ambas variables, con una diferencia de  $p < 0.001$  para Lipasa, Papaina Bromelina y Alfa Amilasa (F). Con Celulasa y Tripsina se obtuvieron diferencias respectivamente de  $p < 0.01$  y  $p < 0.05$ , y no se encontraron diferencias para la Alfa Amilasa (C).

##### b) IgE ESPECIFICA-SINTOMATOLOGIA CLINICA:

¿ La presencia de IgE específica para cada enzima, en los trabajadores sensibilizados, se asociaba a la existencia de clínica respiratoria ?.

Era evidente que, al considerar la presencia de IgE para un enzima determinado, en un trabajador sintomático y sensibilizado a dicho enzima, y a alguno de los

otros enzimas no necesariamente la clínica presentada tenía que ser debida a dicho enzima. Es decir, un trabajador con clínica respiratoria y con IgE específica para diversos enzimas, no es obligado que todos lo enzimas para los que existe IgE específica sean los responsables de su cuadro clínico.

A pesar de estas evidencias e inconvenientes interesaba demostrar, si es que existía, una asociación entre ambos parametros. Solamente se encontró dicha asociación con la Papaína con una diferencia significativa estadísticamente de  $p < 0.05$ .

## B) IgG ESPECIFICA

### a) IgG ESPECIFICA-TEST CUTANEOS:

En la Tabla XIII se recogen los valores medios y la desviación típica de la IgG específica en los grupos de trabajadores con test cutáneos positivos o negativos.

De la misma forma que se estudió este aspecto con la IgE, interesaba comprobar que ocurría en ambos grupos respecto al IgG específica, Nos se encontraron diferencias significativas con ningún enzima excepto con la lipasa. Con éste enzima existía una diferencia estadísticamente significativa con  $p < 0.01$ .

Cuando intentamos asociar la presencia de IgG específica positiva con la existencia de test cutáneos positivos frente a cada uno de los enzimas, utilizando para el estudio la prueba exacta de FISHER y la prueba del  $\chi^2$ , solamente se encontró una asociación significativa en el caso de la Papaina con una diferencia de  $p < 0.01$ . (Tabla XXXVI).

### b) IgG ESPECIFICA-GRADO DE EXPOSICION:

Diversas razones, analizadas en el capítulo de discusión, hacían aconsejable analizar en que medida el grado de exposición podía influir en la existencia de IgG específica frente a los enzimas a los que estaban expuestos.

Se encontró una asociación significativa con una diferencia de  $p < 0.05$  para la Alfa Amilasa (F) y casi significativa para la Alfa Amilasa (c), pero no con el resto de los enzimas.

c) IgG ESPECIFICA-SINTOMATOLOGIA CLINICA:

Al comparar los valores medios de la IgG específica frente a cada enzima con la existencia de sintomatología clínica nasal o bronquial, no se encontraron en ningún caso asociaciones significativas entre ambos hechos.

#### 4. PROVOCACIONES INHALATIVAS

##### A) PROVOCACION INHALATIVA-TEST CUTANEOS

Es muy importante relacionar el resultado de las provocaciones inhalativas con la existencia de test cutáneos positivos a los distintos enzimas y confirmar la existencia de una asociación estadísticamente significativa entre test de provocación inhalativa positiva y test cutáneos positivos.

Se estudiaron los resultados de la provocación inhalativa con cada enzima, encontrándose los siguientes hallazgos:

a) Celulasa: De los 4 trabajadores que tenían test cutáneos positivos se realizaron provocaciones bronquiales en 3, en 2 de los cuales fueron positivos.

Se realizó provocación nasal en 2 trabajadores siendo positiva en un caso que había tenido el test de provocación bronquial negativo.

Por tanto de los 4 trabajadores con test cutáneos positivos, se realizó provocación bronquial o nasal en 3, siendo el resultado de cualquiera de los test positivo en todos ellos. En el cuarto trabajador no se realizaron ninguno de los test. (Tabla XXXVII).

Se realizaron también provocaciones inhalativas bronquiales en 3 trabajadores con test cutáneos negativos, y clínica bronquial en 2 casos y solo nasal en el tercero, siendo positivo el test en uno de ellos, que refería síntomas bronquiales y estaba sensibilizado a otros enzimas (nº. 24).

b) Lipasa: De los 7 trabajadores con test cutáneos positivos solamente en uno se realizó provocación bronquial, siendo el resultado positivo.

No se realizaron provocaciones nasales o bronquiales en ningún otro trabajador.

c) Alfa Amilasa (F): De los 26 trabajadores con test cutáneos positivos se

realizaron provocaciones bronquiales en 14, de los cuales fueron positivas en 6 trabajadores (42,9%).

En 11 trabajadores de los que tenían test cutáneos positivos, se realizó provocación inhalativa nasal, siendo positiva en 6 (54,5%). De ellos, 2 tenían el test bronquial negativo, en 2 no se había realizado y en los otros 2 el resultado del test bronquial fue también positivo.

En resumen (Tabla XXXVIII) se realizaron provocaciones bronquiales o nasales en 18 trabajadores siendo positivas en 10 (55,5%).

No se realizaron provocaciones inhalativas en ningún trabajador con test cutáneos negativos.

d) Papaína: De los 26 trabajadores que tenían test cutáneos positivos con este enzima, se realizaron provocaciones bronquiales en 14, siendo el resultado positivo en 9 (64,2%).

En 11 trabajadores se realizó test de provocación nasal, siendo positivo en 10 (90,9%). Este test nasal fue positivo en 4 que tenían test de provocación bronquial negativo y solamente un trabajador con test cutáneos positivos tenían negativos ambos test inhalativos. (Tabla XXXIX).

De los 15 trabajadores a los que se les realizó el test de provocación inhalativa, resultó positivo, bien el test bronquial o nasal o ambos, en 14 (93,4%).

En 2 trabajadores con clínica respiratoria y test cutáneos negativos, se les realizaron igualmente provocaciones inhalativas, siendo en uno de ellos el resultado positivo tanto en el test de provocación bronquial como en el nasal (caso 25); en el otro trabajador (caso 30), se realizó únicamente el test de provocación nasal con el resultado negativo. En otro trabajador con clínica respiratoria y con test cutáneos negativos fue sometido a test de provocación nasal con resultado negativo (caso 75).

e) Bromelina: De los 18 trabajadores que tenían test cutáneos positivos se realizó provocation bronquial en 8. En 5, el resultado fue positivo, lo que representa el 62,5%.

Se realizó provocation nasal en 5 trabajadores, siendo positivo en 2. Ambos habían tenido la provocation bronquial negativa. De los 3 trabajadores que tenían el test de provocation nasal negativo, en 2 no se había realizado test de provocation bronquial y, en 1 de ellos ambos test fueron negativos. (Tabla XL).

Por tanto, en 10 trabajadores se realizaron provocationes inhalativas bronquiales o nasales, siendo el resultado positivo en 7, lo que representa el 70%.

Se realizaron también provocationes bronquiales en 5 trabajadores que presentaban clínica respiratoria pero que tenían test cutáneos negativos, siendo el resultado del test de provocation bronquial negativos en 4 y positivo en 1.

Aunque existe evidencia clínica de que los test de provocation inhalativa positivos se asocian a la existencia de test cutáneos positivos en los trabajadores expuestos y sintomáticos, no se ha podido valorar esta asociación estadísticamente dada la escasez de la muestra.

Sin embargo, sí existe diferencia significativa cuando comparamos los resultados de la provocation inhalativa en el grupo de trabajadores con test cutáneos positivos y el grupo control de 10 pacientes asmáticos no expuestos. Para este estudio se utilizó la prueba exacta de FISHER, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla XLI). En todos los enzimas que pudieron ser procesados, se encontró una asociación significativa con  $p < 0.01$ .

### B) PROVOCACION INHALATIVA-IgE ESPECIFICA

Creemos importante correlacionar entre si el resultado de los test de provocation inhalativa con los niveles de IgE específica para cada uno de los enzimas.

La escasez de la muestra, en lo que respecta al número de provocaciones inhalativas realizadas, fué un inconveniente insalvable para analizar estadísticamente estos datos y, en los casos en que pudo ser realizado el estudio, como ocurrió con la Papaína, Bromelina y Alfa Amilasa (F), no se encontraron valores estadísticamente significativos entre ambos parámetros, solo la Papaína se acerca a valores significativos ( $p = 0.06$ ).

Sin embargo, al analizar los resultados que quedan reflejados en las Tablas XLII, XLIII, XLIV y XLV, llaman la atención los siguientes hechos.

En el caso de la Papaína, de los 15 trabajadores que presentaban test inhalativos positivos sólo en 5, los valores de la IgE específica era inferior a 0.150 u.O.D., en el resto de la cifra de IgE era superior al considerado como positivo. En los 3 trabajadores con test inhalativo negativo la cifra de IgE específica era inferior a 0.150 u.O.D.

Los 7 trabajadores que tuvieron de test de provocación con Bromelina negativo tenían cifras igualmente negativas de IgE específica. Sin embargo en 5 trabajadores con test de provocación positivo las cifras de IgE fueron igualmente inferiores a 0.150 u.O.D.

Con Celulosa, de los 4 trabajadores que presentaban test de provocación positivos, en 2 de ellos las cifras de IgE eran superiores a 0.150 u.O.D. y en los otros 2 inferiores a 0.150 u.O.D.

La situación con respecto a la Alfa Amilasa (F) fue distinta. Sólo un trabajador con test inhalativo negativo tenía cifras de IgE inferiores a 0.150 u.O.D., mientras que los otros 7 trabajadores en los que el test de provocación fue negativo presentaban cifras de IgE superiores a 0.150 u.O.D. y todos los que habían tenido test de provocación positivo tenían igualmente cifras de IgE positivas.

### C) PROVOCACION INHALATIVA-CLINICA RESPIRATORIA- TEST CUTANEOS

Creemos importante relacionar estos parámetros, ya que la especificidad de los test cutáneos y de las provocaciones inhalativas haría que ambos test estuvieran en clara asociación con trabajadores que prestasen clínica respiratoria en relación con su medio laboral.

La Tabla XLVI, recoge los resultados obtenidos.

En el caso de la Celulosa, existen 4 trabajadores con test cutáneos positivos, en todos ellos existía clínica respiratoria en relación con el medio laboral y en 3 la provocación inhalativa fue positiva. En otro trabajador con test cutáneos negativos la provocación inhalativa fué positiva (paciente nº. 24).

Los 7 trabajadores con test cutáneos positivos a Lipasa, tenían clínica respiratoria. Solo en uno de ellos se realizó provocación bronquial que fue positiva.

De la muestra total, 26 trabajadores tenían test cutáneos positivos a Alfa Amilasa (F), pero solo referían clínica respiratoria 20 trabajadores, por tanto en 6 de los sensibilizados no se recogía la existencia de síntomas nasales o bronquiales (Alergia latente ?). De los 20 con test cutáneos positivos y clínica respiratoria en 15 se realizaron test de provocación inhalativa, siendo positivas en 9 (60%).

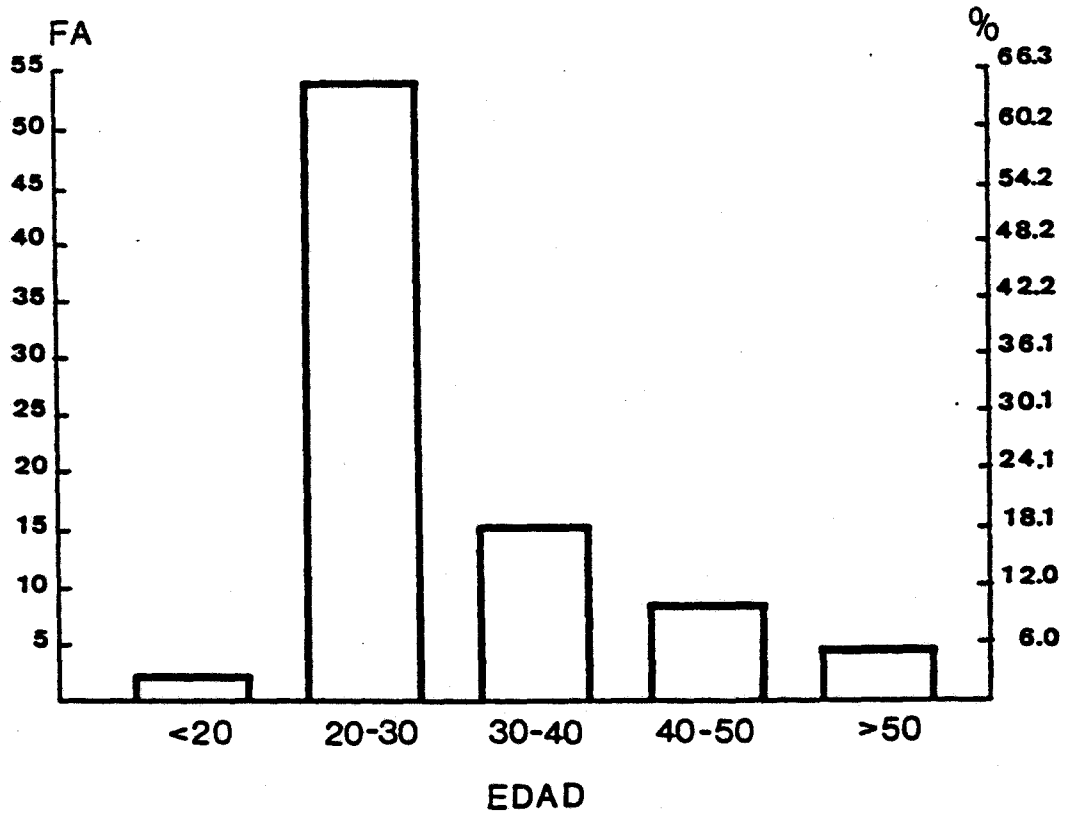
Todos los trabajadores sensibilizados a Papaína, 26, referían clínica respiratoria. Se realizaron provocaciones inhalativas, en 16, siendo el resultado positivo en 15 (93,7%), uno de ello tenía test cutáneos negativos (Paciente nº. 25).

Respecto a la Bromelina de los 18 sensibilizados, 16 trabajadores tenían clínica respiratoria, por tanto en 2 que tenían test cutáneos positivos, no se recogía la existencia de sintomatología clínica (alergia latente ?). En 13 de los 16 se realizaron test de provocación inhalativa, siendo positivos en 8. (61,5%).

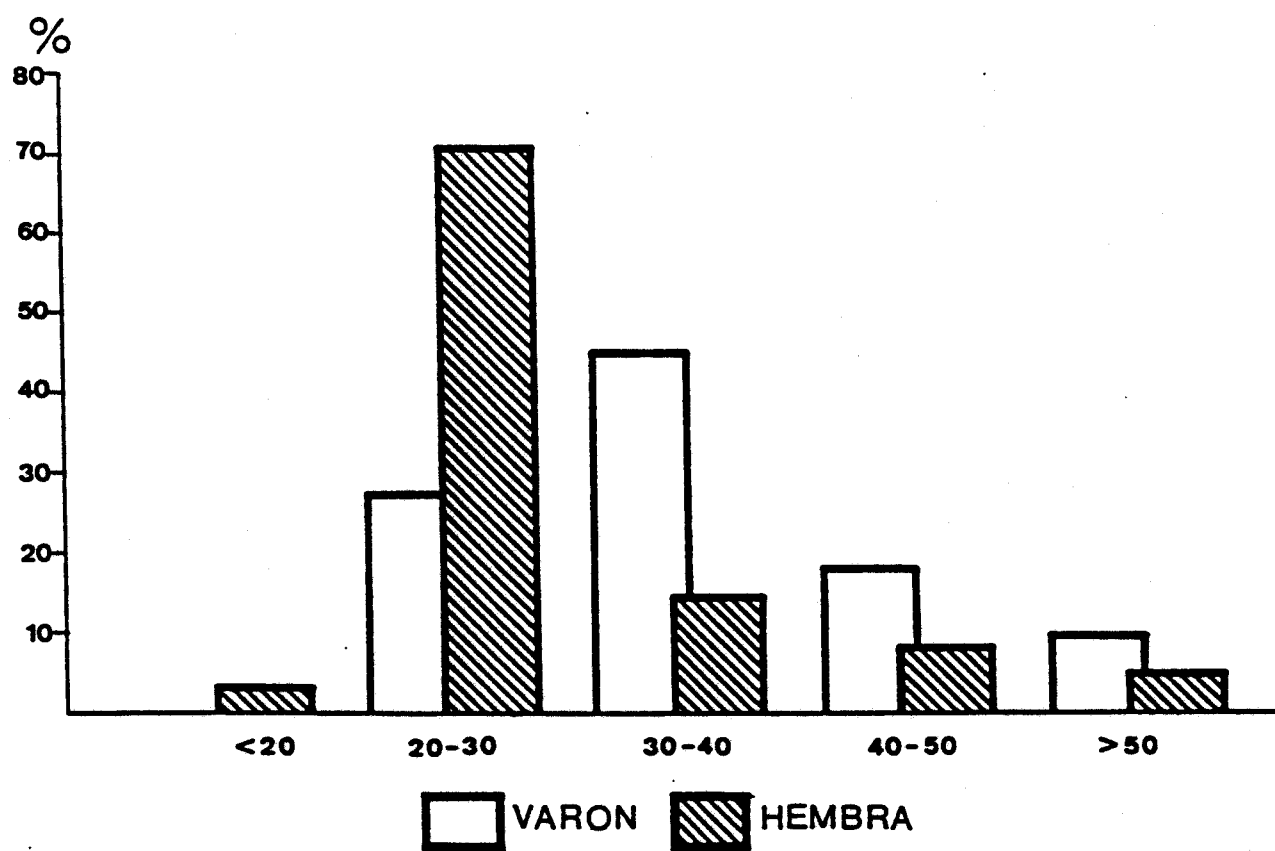


**5. TABLAS, FOTOGRAFIAS Y FIGURAS.**

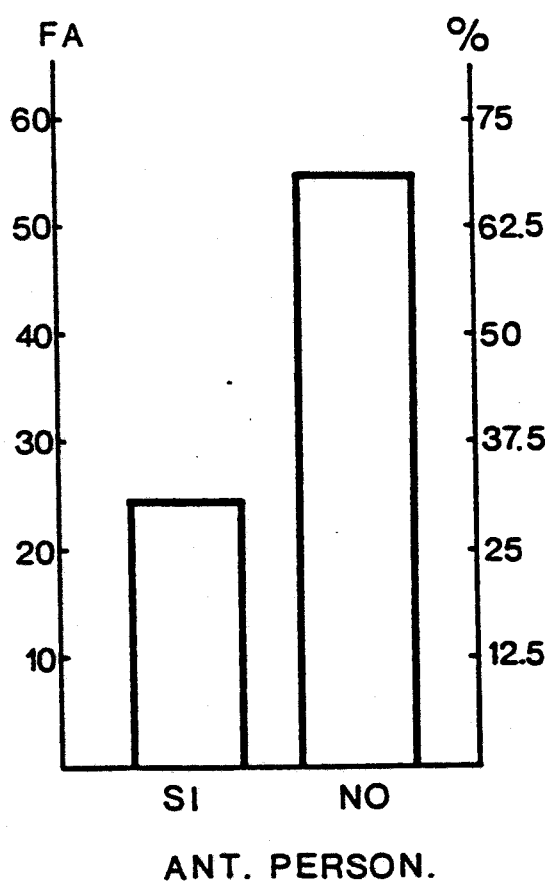
**FIGURA 10**  
**DISTRIBUCION SEGUN LA EDAD**



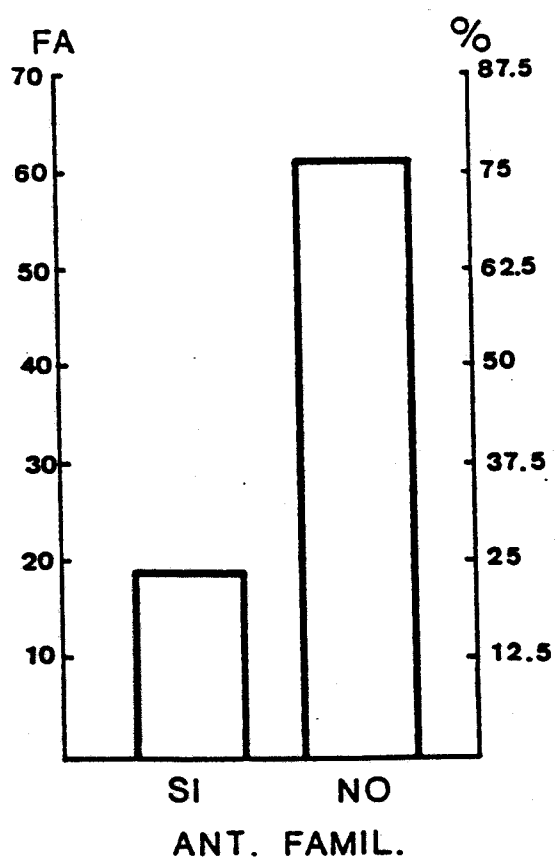
**FIGURA 11**  
**DISTRIBUCION SEGUN EDAD Y SEXO**



**FIGURA 12**  
**DISTRIBUCION ANTECEDENTES PERSONALES**



**FIGURA 13**  
**DISTRIBUCION ANTECEDENTES FAMILIARES**



**FIGURA 14**  
**DISTRIBUCION SEGUN GRADO DE EXPOSICION**

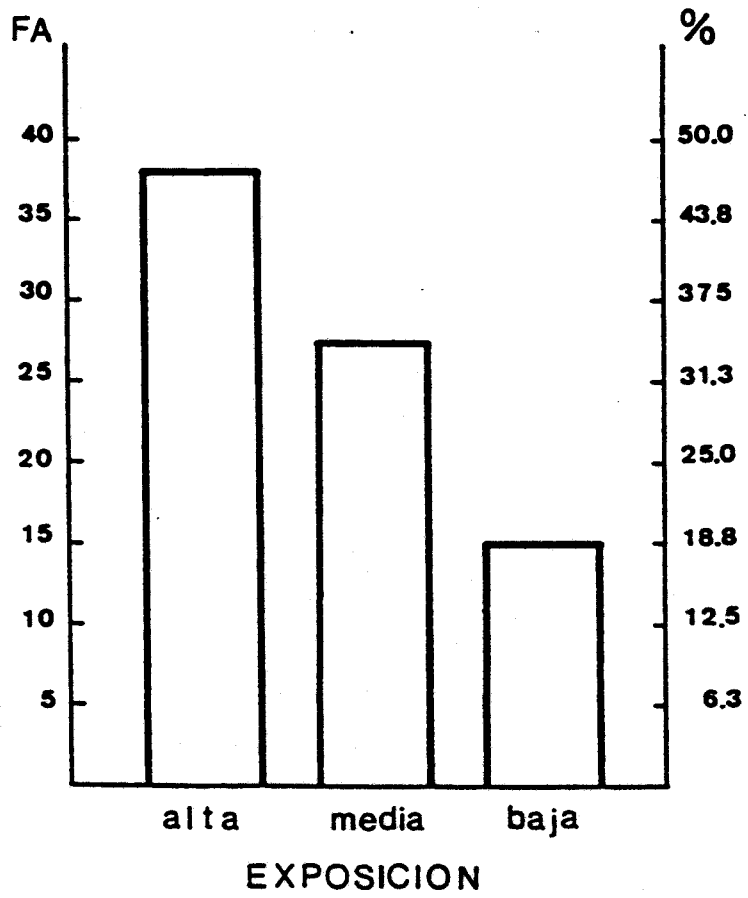
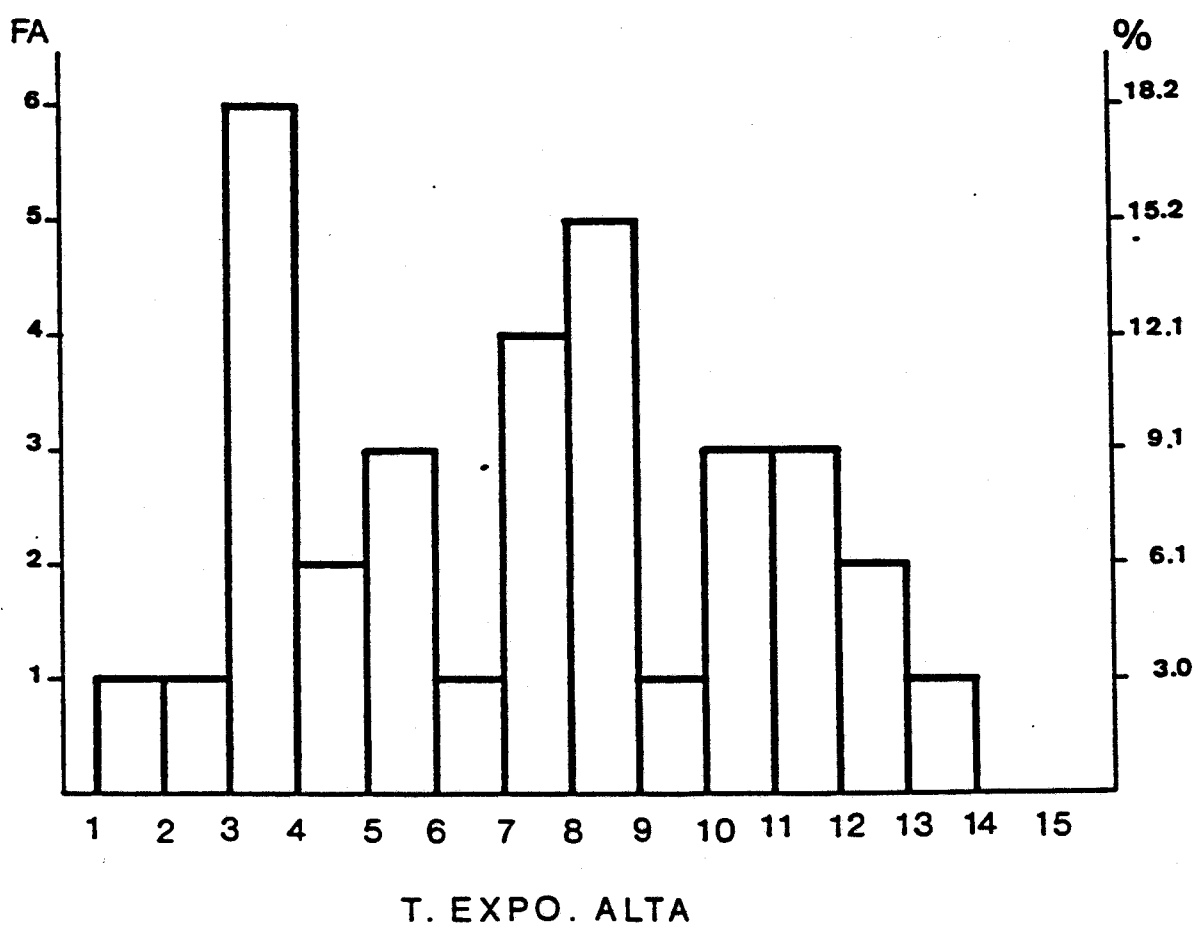
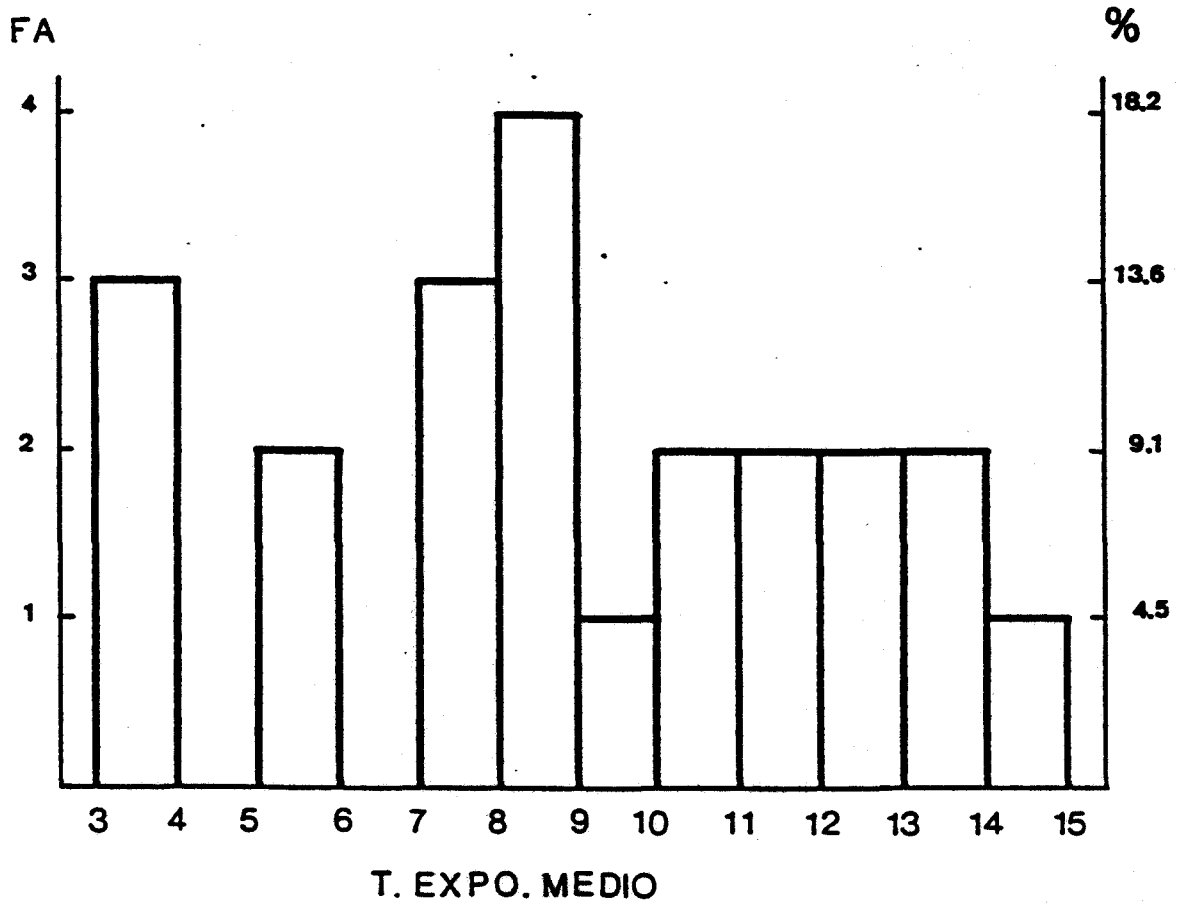


FIGURA 15  
GRADO DE EXPOSICION ALTO

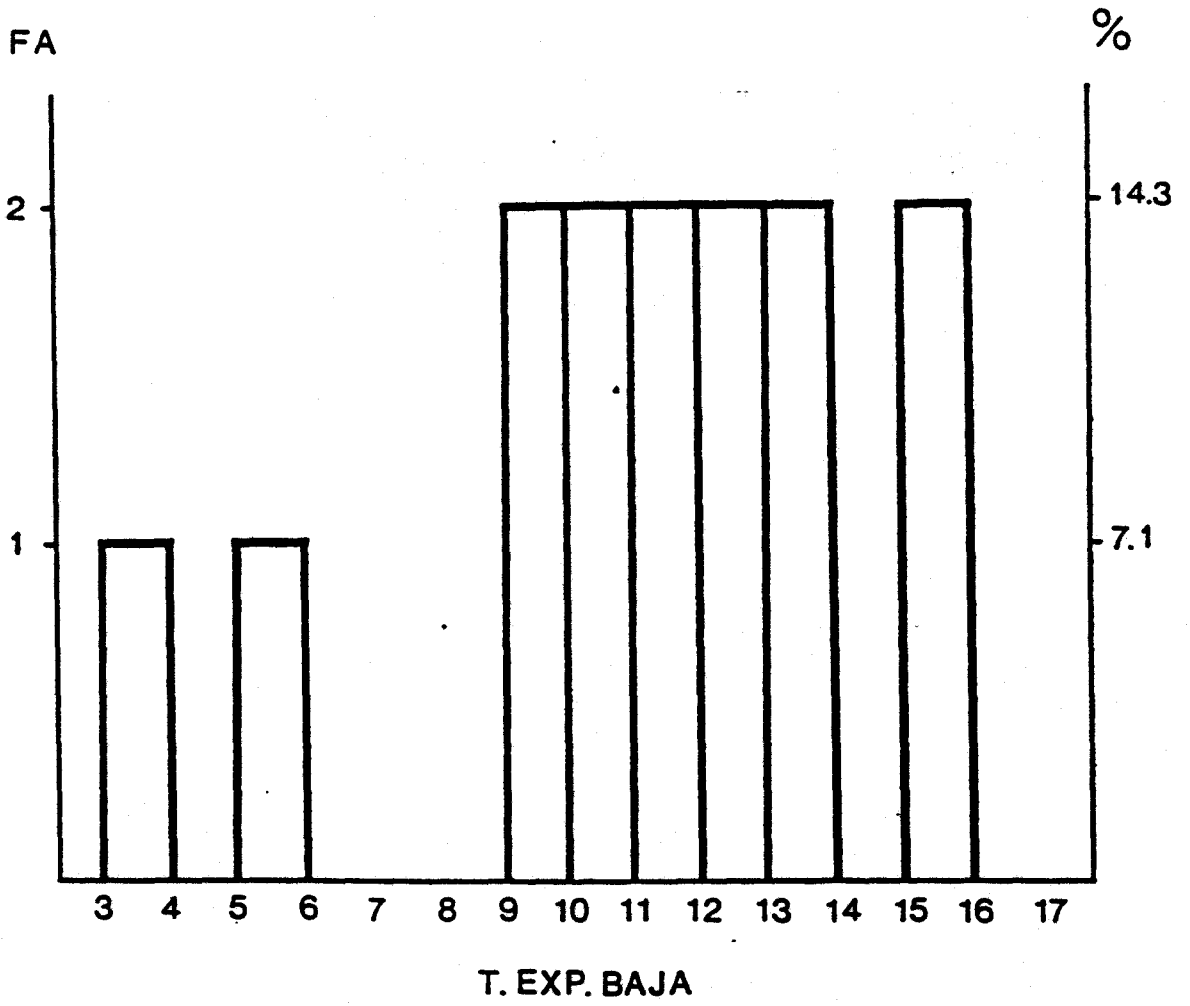


**FIGURA 16**  
**GRADO DE EXPOSICION MEDIO**

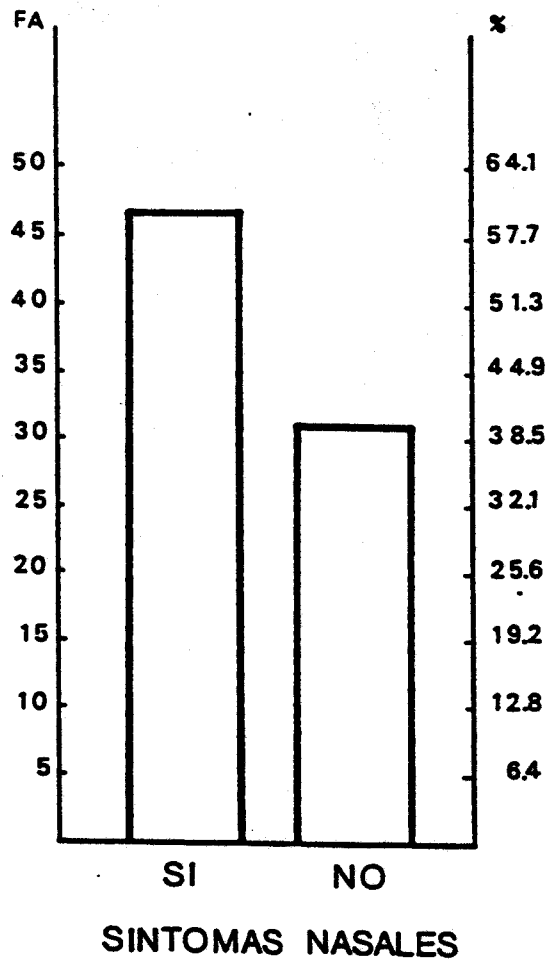




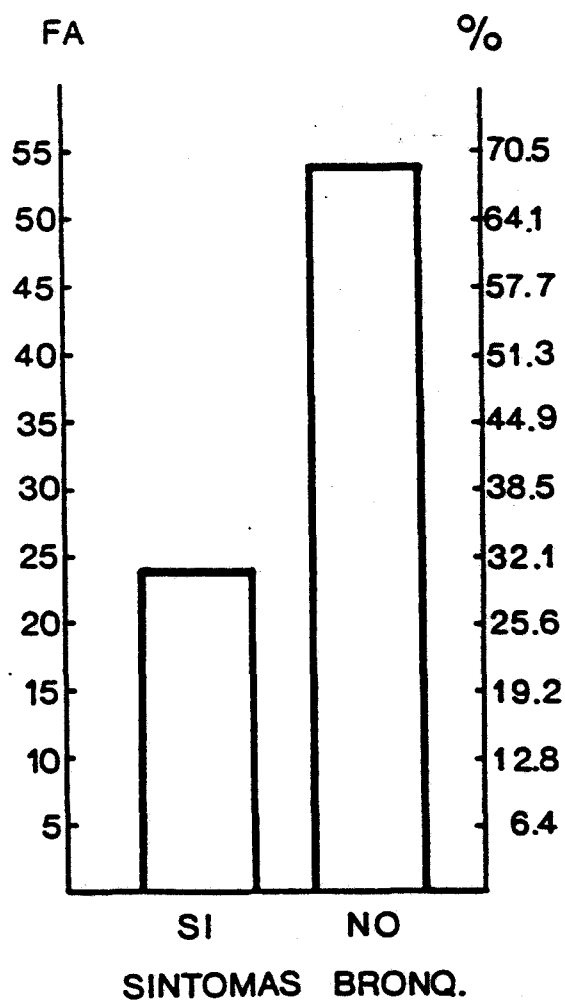
**FIGURA 17**  
**GRADO DE EXPOSICION BAJO**



**FIGURA 18**  
**DISTRIBUCION SEGUN SINTOMAS NASALES**



**FIGURA 19**  
**DISTRIBUCION SEGUN SINTOMAS BRONQUIALES**



**FIGURA 20**  
**DURACION DE LA SINTOMATOLOGIA**

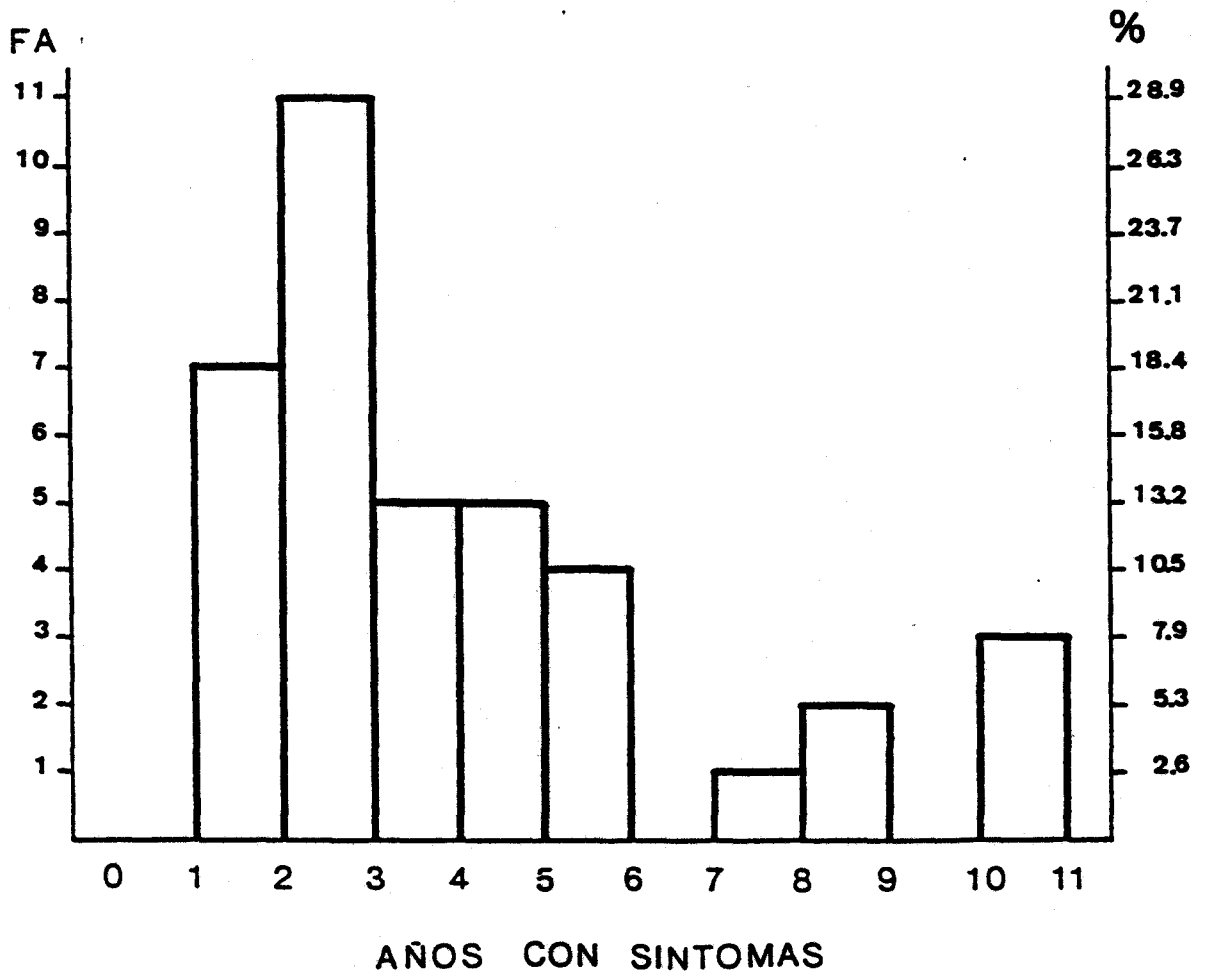


TABLA IX

RELACION DE TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS CON  
ALGUNO DE LOS ENZIMAS

Nº	CELULA.	LIPA.	A. AMILA (F)	PAPAI.	BROMELI.	A. AMILA (C)	TRIPS.
1			+	+			
5				+	+	+	
8			+				
9				+			
10				+	+		+
12				+			
15		+	+	+	+	+	
17		+	+	+	+	+	+
18		+	.	+	+		
21	+	+	+	+	+	+	+
23			+				
24			+	+			
25			+				
26				+			
27	+	+	+	+	+	+	+
30			+				
35			+				
42			+				




TABLA IX

RELACION DE TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS CON  
ALGUNO DE LOS ENZIMAS

Nº	CELULA.	LIPA.	A. AMILA (F)	PAPAI.	BROMELI.	A. AMILA (c)	TRIPS.
43	+	+	+	+	+		+
46			+	+	+		
47				+			
50					+		
52			+	+		+	
54			+	+			
55			+	+	+		
64			+	+		+	
65			+	+			
66				+	+		
67			+	+	+	+	+
68			+	+	+		
71			+				
73			+	+	+		
75			+		+		
81	+	+	+	+	+	+	+
82				+	+		
83			+				
36	4	7	26	26	18	9	7





## FIGURA 21

## DIBUJO DEL RESULTADO DEL TEST CUTANEO EN EL CASO N° 15

- CELULASA
- LIPASA
-   $\alpha$  AMILASA (1/100, p/v)
-  PAPAINA (1/100, p/v)
-  BROMELINA (1/10, p/v)
- $\alpha$  AMILASA p.c. (1/10, p/v)
- TRIPSINA (1/10, p/v)
- HISTAMINA

## FIGURA 22

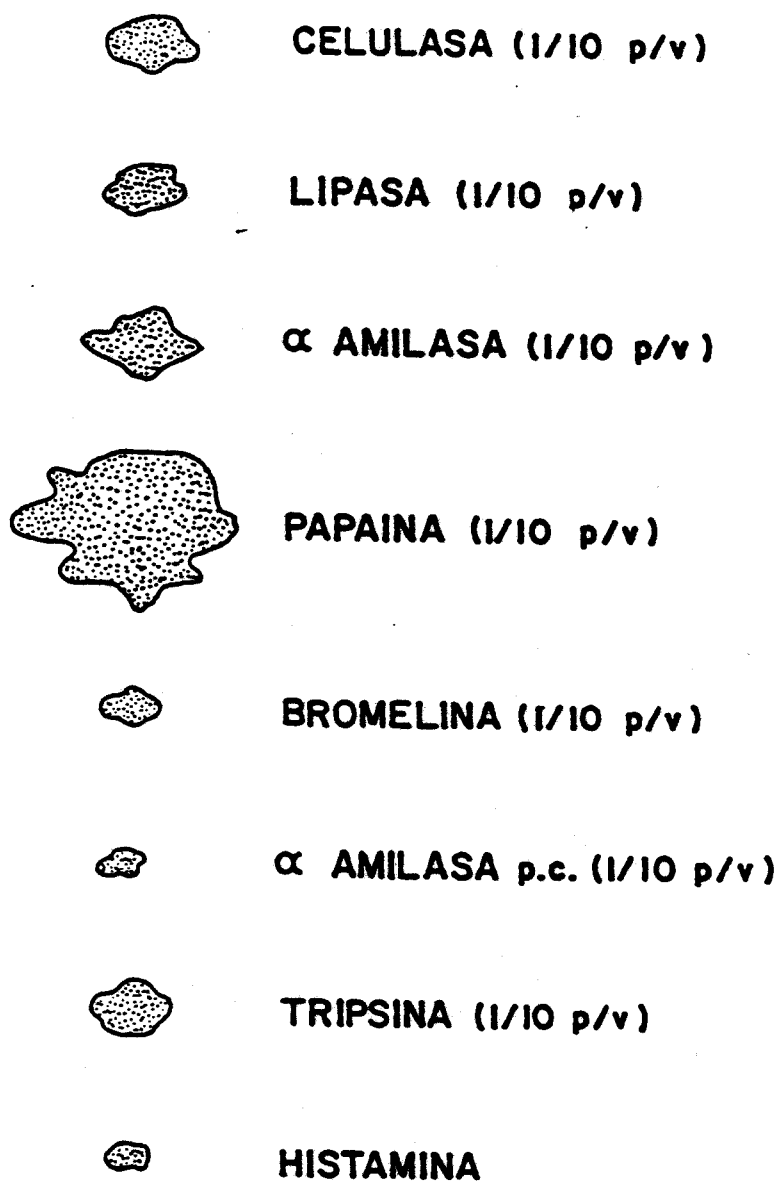
## DIBUJO DEL RESULTADO DEL TEST CUTANEO EN EL CASO N° 18

—	CELULASA
	LIPASA (1/10, p/v)
—	$\alpha$ AMILASA (1/100, p/v)
	PAPAINA (1/100, p/v)
	BROMELINA (1/10, p/v)
—	$\alpha$ AMILASA p.c.
—	TRIPSINA
	HISTAMINA



## FIGURA 23

## DIBUJO DEL RESULTADO DEL TEST CUTANEO EN EL CASO N° 218



## FIGURA 24

## DIBUJO DEL RESULTADO DEL TEST CUTANEO EN EL CASO N° 81



CELULASA (1/10, p/v)



LIPASA (1/10, p/v)

 $\alpha$  AMILASA (1/100, p/v)

PAPAINA (1/100, p/v)



BROMELINA (1/100, p/v)

 $\alpha$  AMILASA p.c. (1/10, p/v)

TRIPSINA (1/100, p/v)



HISTAMINA

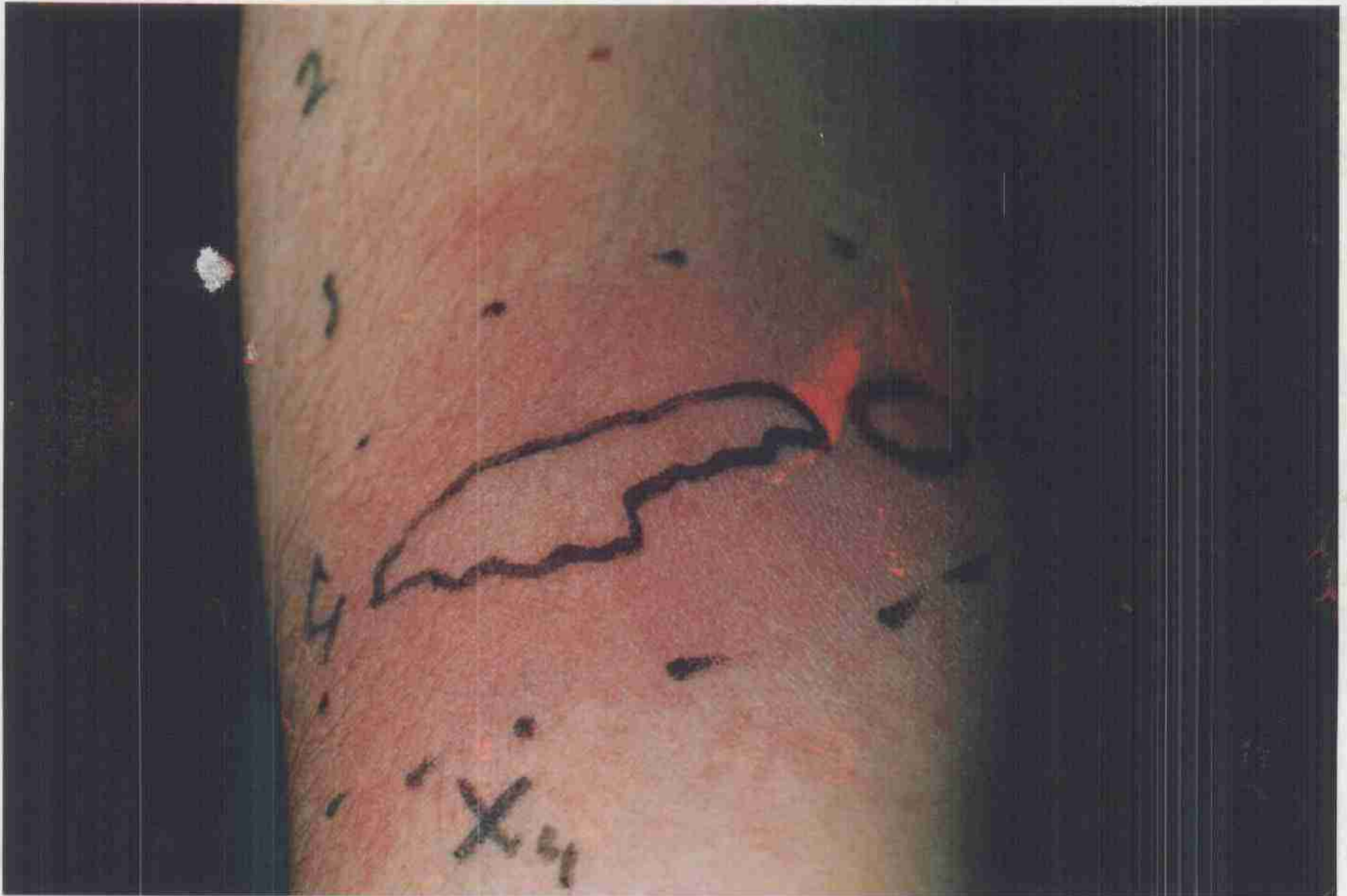
FOTOGRAFIA 9  
TEST CUTANEOS EN EL CASO N 17



FOTOGRAFIA 10  
TEST CUTANEOS EN EL CASO N 73



FOTOGRAFIA 11  
TEST CUTANEOS EN EL CASO N 82



FOTOGRAFIA 12  
TRANSFERENCIA PASIVA (P.K.) EN EL CASO N 17



FIGURA 25

DIBUJO DEL RESULTADO DEL P.K. EN EL CASO N° 82

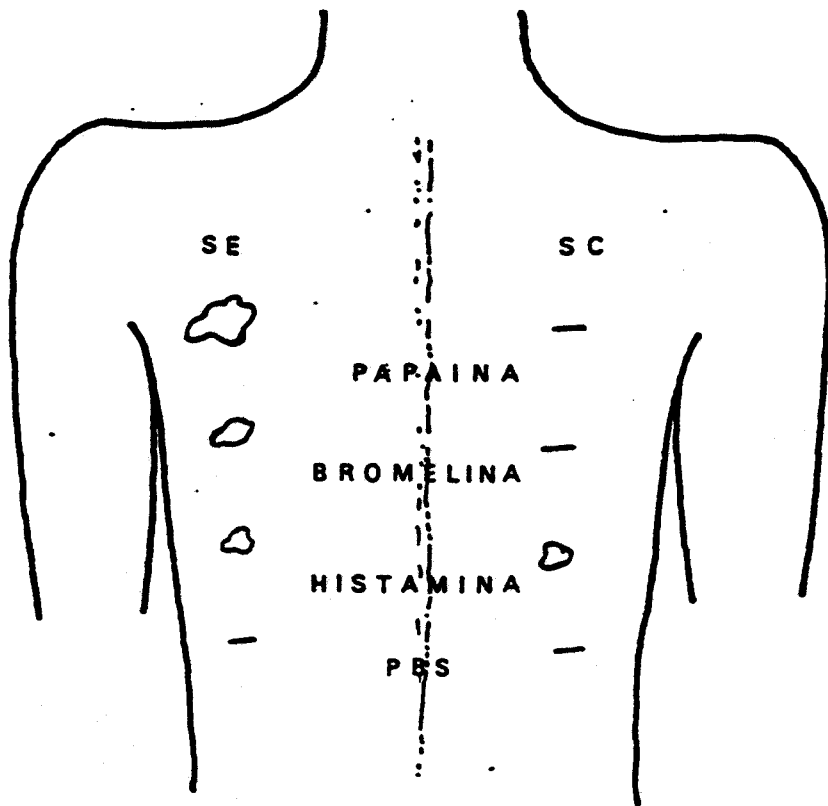


FIGURA 26

DIBUJO DEL RESULTADO DEL P.K. EN EL CASO N° 43

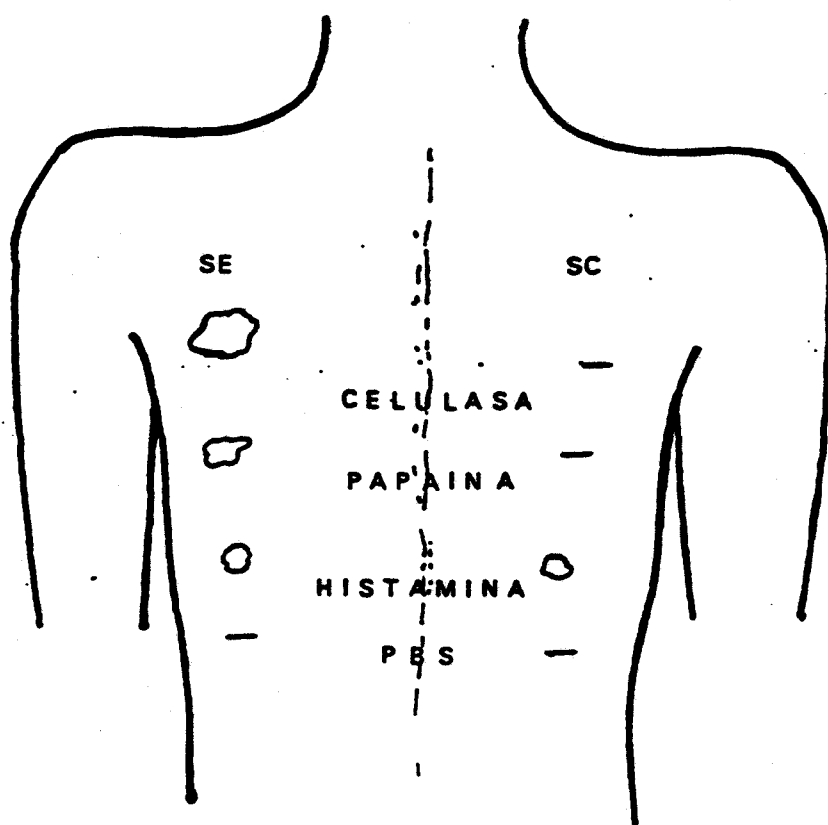




TABLA X

## IgE ESPECIFICA EN TODOS LOS TRABAJADORES

ENZIMA	VALOR MEDIO	DES. TIPICA	CONTROLES V. MEDIO
CELULASA	0,106	0,42	0.050
LIPASA	0,0323	0,15890	0.030
ALFA AMILASA (F)	0,6321	1,9435	0.060
PAPAINA	0,6882	1,9353	0.050
BROMELINA	0,1470	0,4527	0.020
ALFA AMILASA (c)	0,0421	0,0339	0.010
TRIPSINA	0,0382	0,0702	0.010

TABLA XI

## IgE ESPECIFICA EN TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS Y NEGATIVOS

	CELULASA		LIPASA		A. AMILASA (F)	
	+	-	+	-	+	-
M	1.0455	0.0578	0.292	0.0080	1.6774	0.1737
DT	1.842	0.0280	0.5036	0.0090	3.3181	0.206
T	4	78	7	75	26	56

	PAPAINA		BROMELINA		A. AMILASA(c)		TRIPSINA	
	+	-	+	-	+	-	-	+
M	2.068	0.0473	0.4547	0.060	0.0658	0.0391	0.131	0.0296
DT	3.038	0.0374	0.918	0.0379	0.0775	0.233	0.174	0.0453
T	26	56	18	64	9	73	7	75

M: Valor Medio  
D.T.: Desviación Típica  
T: Tamaño de la muestra

Prueba de Man-Whitney

p < 0.001 para Papaina y Alfa Amilasa (F)

p < 0.01 para Bromelina

p < 0.1 para Lipasa

N.S. para Tripsina y Alfa Amilasa (c)

No se puede procesar la Celulasa.

TABLA XII

## IgG ESPECIFICA EN TODOS LOS TRABAJADORES

ENZIMA	VALOR MEDIO	DES. TIPICA	CONTROLES V. MEDIO
CELULASA	0,4449	0,6128	0.020
LIPASA	0,1524	0,0851	0.010
ALFA AMILASA (F)	0,6575	0,4064	0.050
PAPAINA	0,4303	0,8590	0.040
BROMELINA	0,5429	0,1879	0.040
ALFA AMILASA (c)	0,2686	0,2986	0.010
TRIPSINA	0,0978	0,0436	0.010

TABLA XIII

## IgG ESPECIFICA EN TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS Y NEGATIVOS

	CELULASA		LIPASA		A. AMILASA (F)	
	+	-	+	-	+	-
M	1.5632	0.3875	0.2369	0.1445	0.6789	0.6482
DT	2.0346	0.4068	0.0915	0.0808	0.3615	0.4273
T	4	78	7	75	26	56

	PAPAINA		BROMELINA		A. AMILASA (c)		TRIPSINA	
	+	-	+	-	+	-	+	-
M	0.6713	0.3185	0.5873	0.5305	0.2272	0.2738	0.1166	0.0961
DT	1.0776	0.7203	0.2212	0.1774	0.1427	0.3127	0.0386	0.0439
T	26	56	18	64	9	73	7	75

M: Valor Medio  
D.T.: Desviación Típica  
T: Tamaño de la muestra

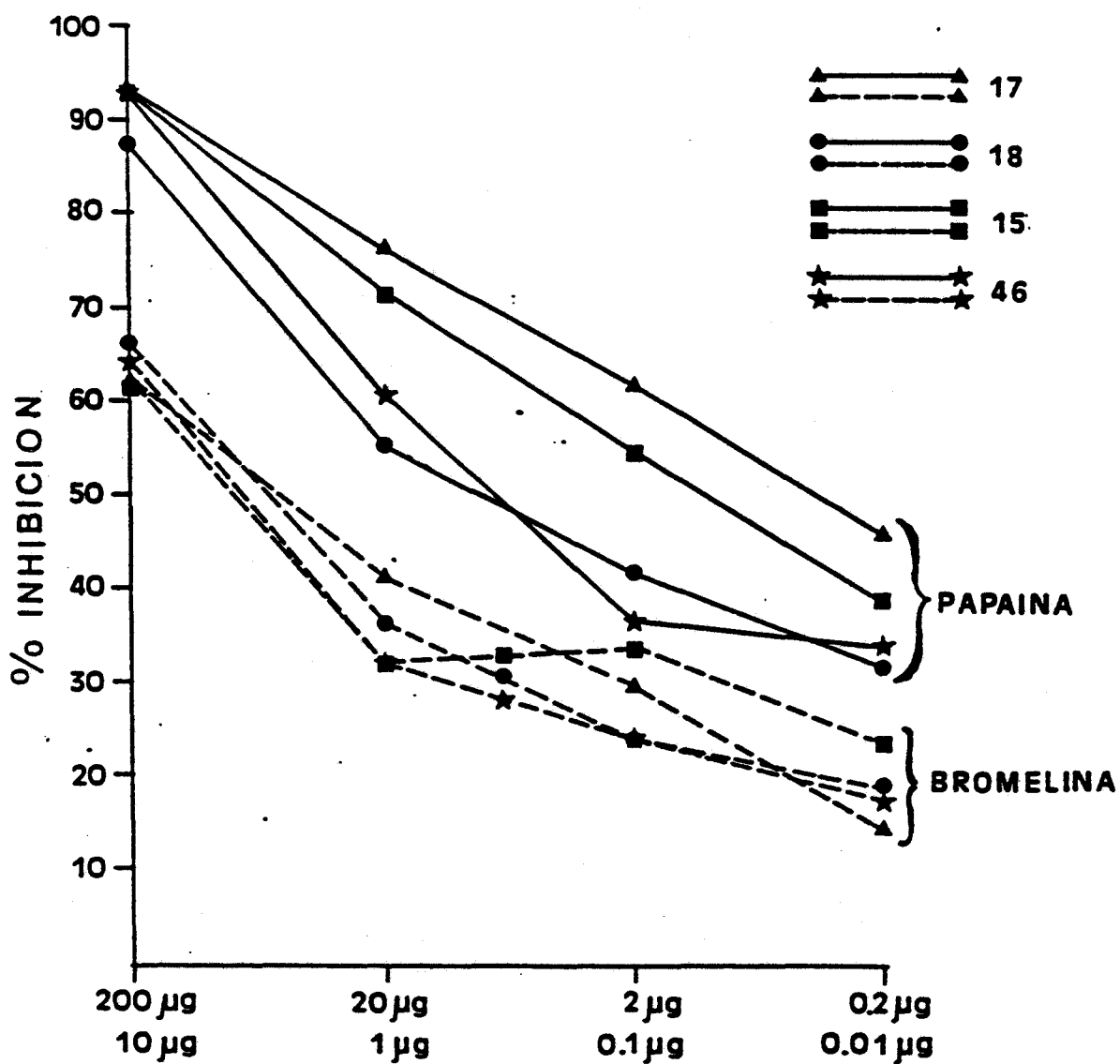
Prueba de Mann-Whitney.

p < 0.1 para Lipasa

N.S. para el resto de los enzimas.

FIGURA 27

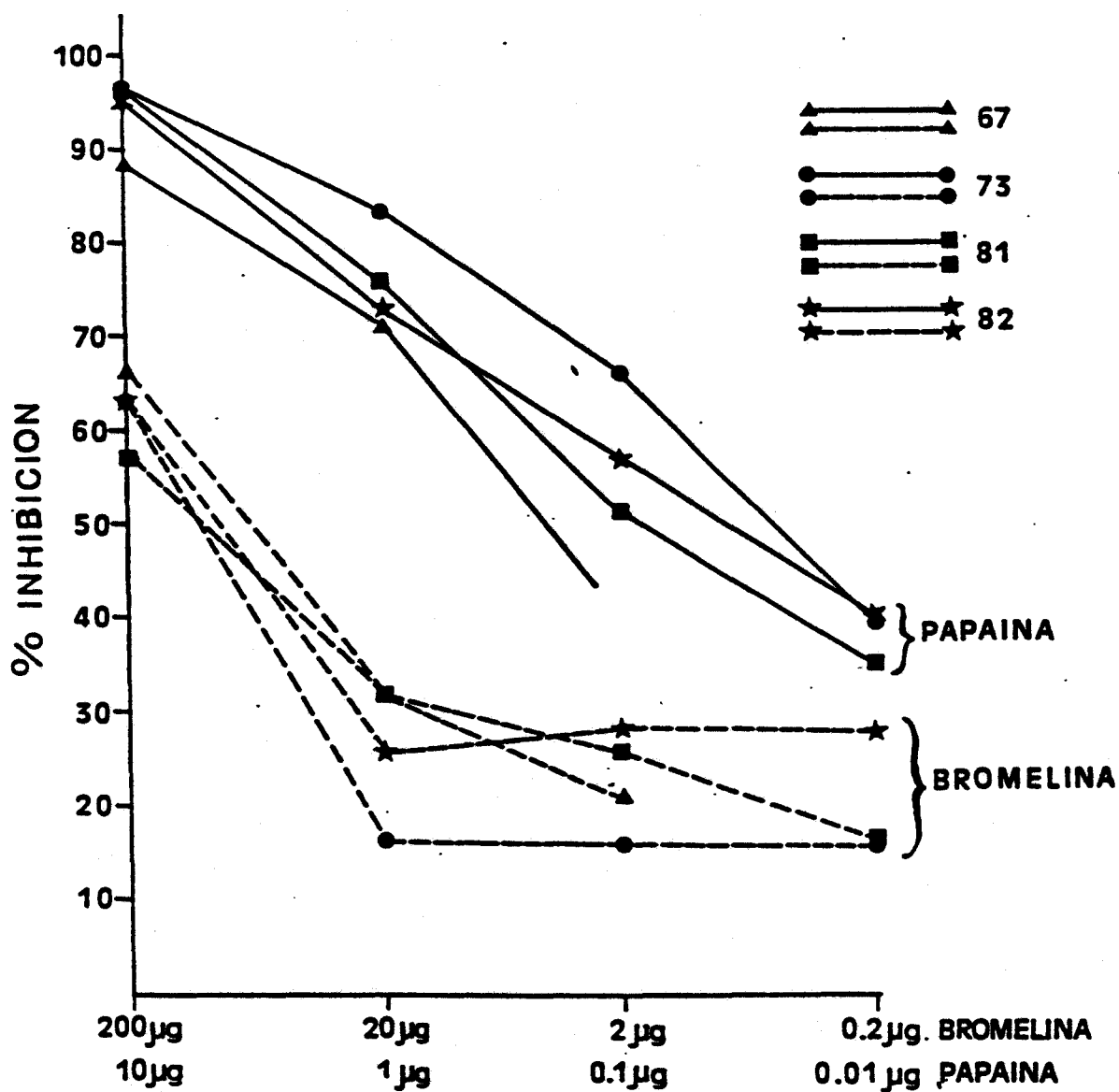
## REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE PAPAINA Y BROMELINA



PORCENTAJES DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD IgE  
 PARA PAPAINA AL AÑADIR CANTIDADES CRECIENTES  
 DE PAPAINA Y BROMELINA (REIA-INHIBICION)  
 PACIENTES NOS: 17,18,15,46

FIGURA 28

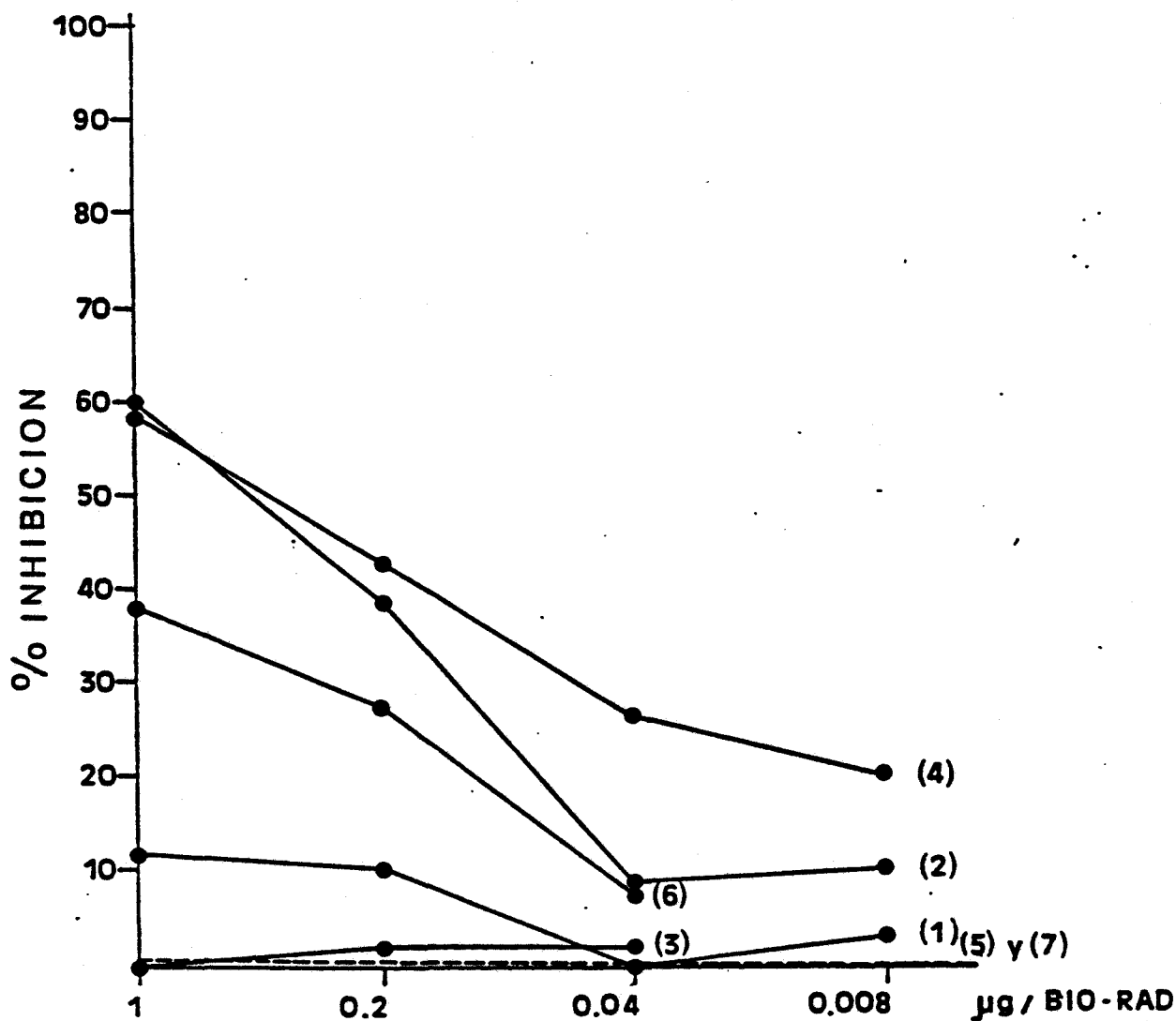
## REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE PAPAINA Y BROMELINA



PORCENTAJES DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD IgE  
 PARA PAPAINA AL AÑADIR CANTIDADES CRECIENTES  
 DE PAPAINA Y BROMELINA (REIA - INHIBICION)  
 PACIENTES NOS: 67, 73, 81, 82

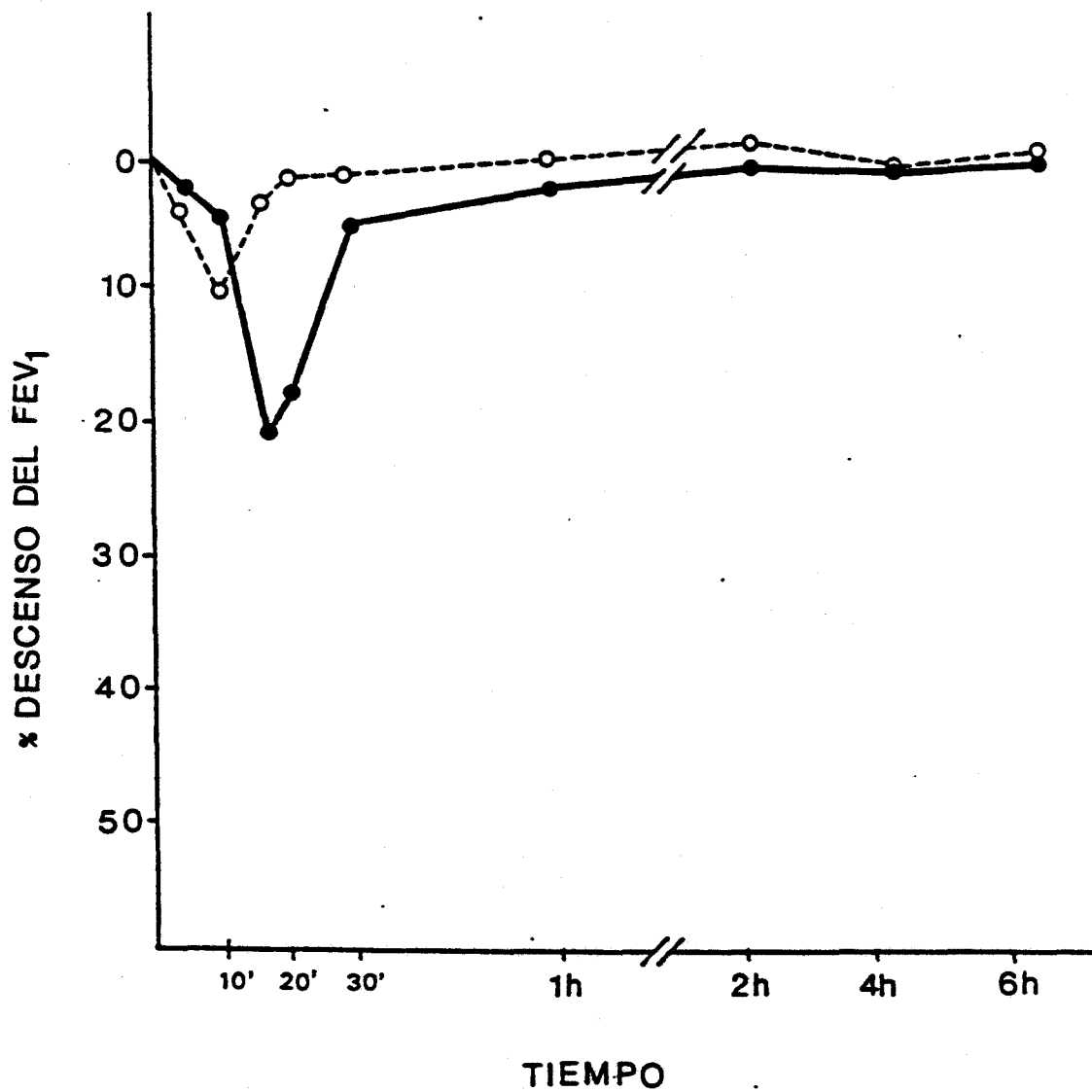
FIGURA 29

## REACTIVIDAD CRUZADA ENTRE CELULASA Y A. NIGER



PORCENTAJES DE INHIBICION DE LA ACTIVIDAD IgE  
AL AÑADIR CANTIDADES CRECIENTES DE OTROS AN-  
TIGENOS (REIA-INHIBICION)  
(1) α-AMILASA, (2) CELULASA FABRICA, (3) M. RACE-  
MOSUS, (4) CELULASA, (5) C. HERBARUM, (6) A. NIGER  
Y (7) A. TENUIS.

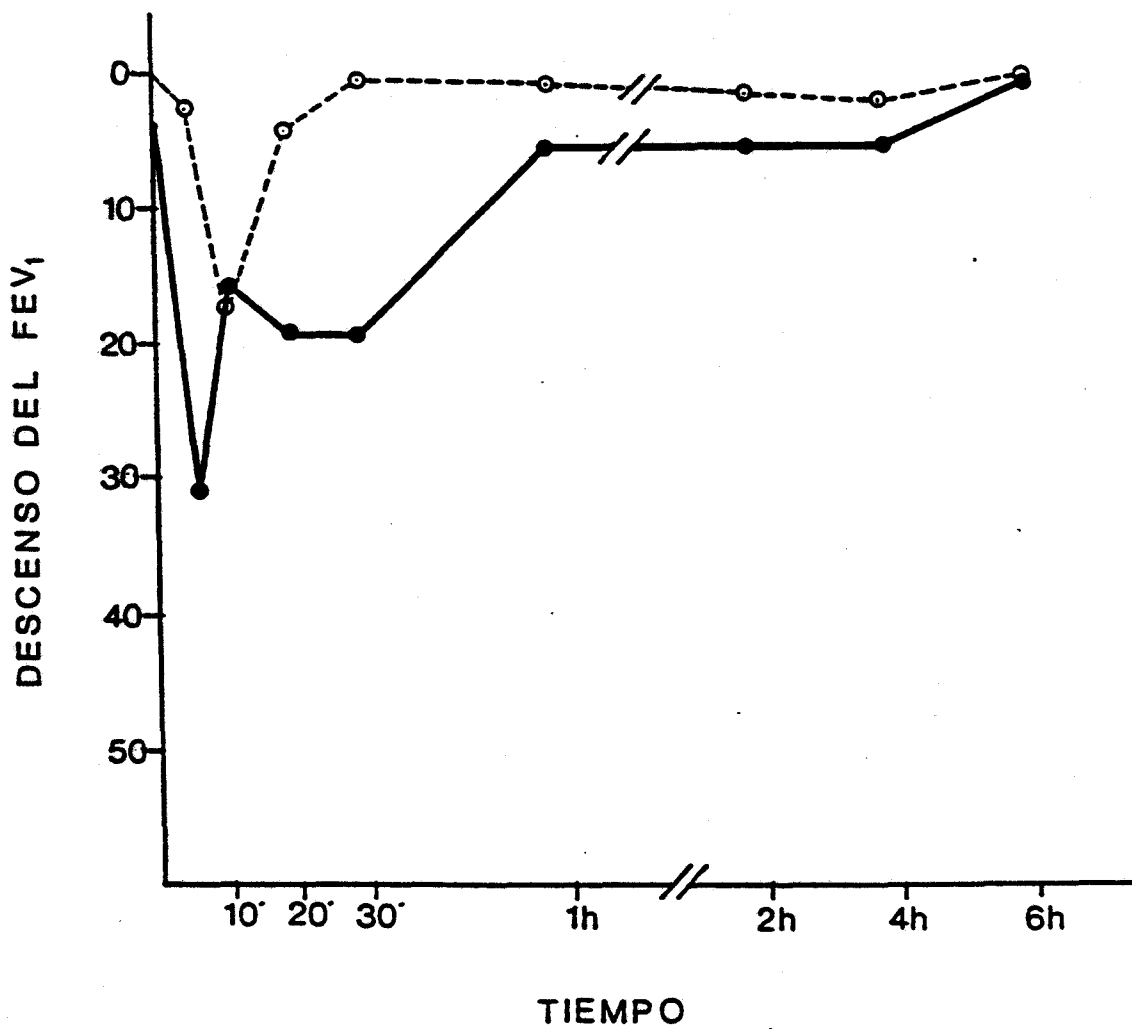
FIGURA 30



PROVOCACION BRONQUIAL CON CELULOSA 0.5 MG (●-●) Y SU MODIFICACION CON EL PRETRATAMIENTO CON 40MG DE CGDS (○-○) CASO N° 43

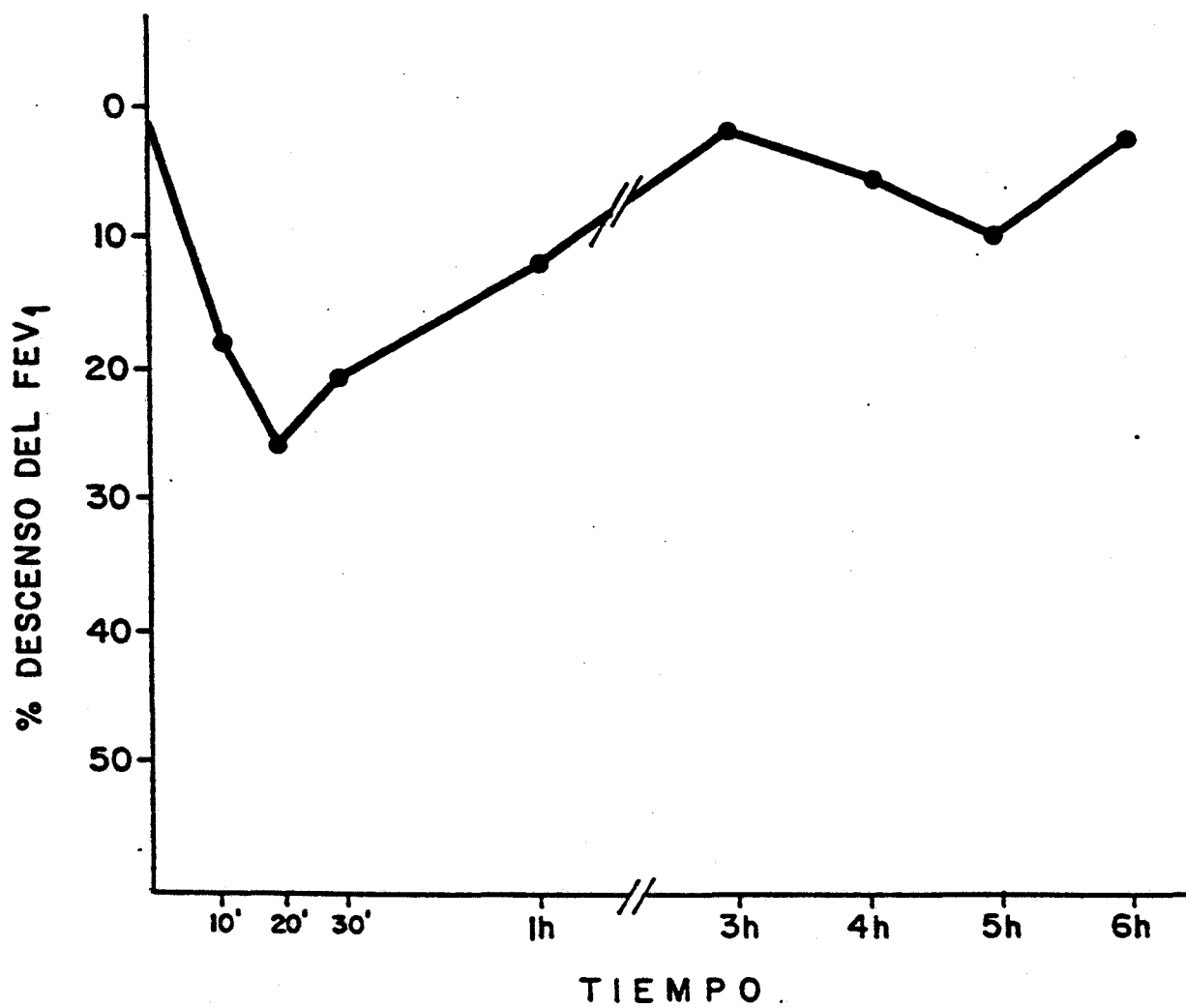


FIGURA 31



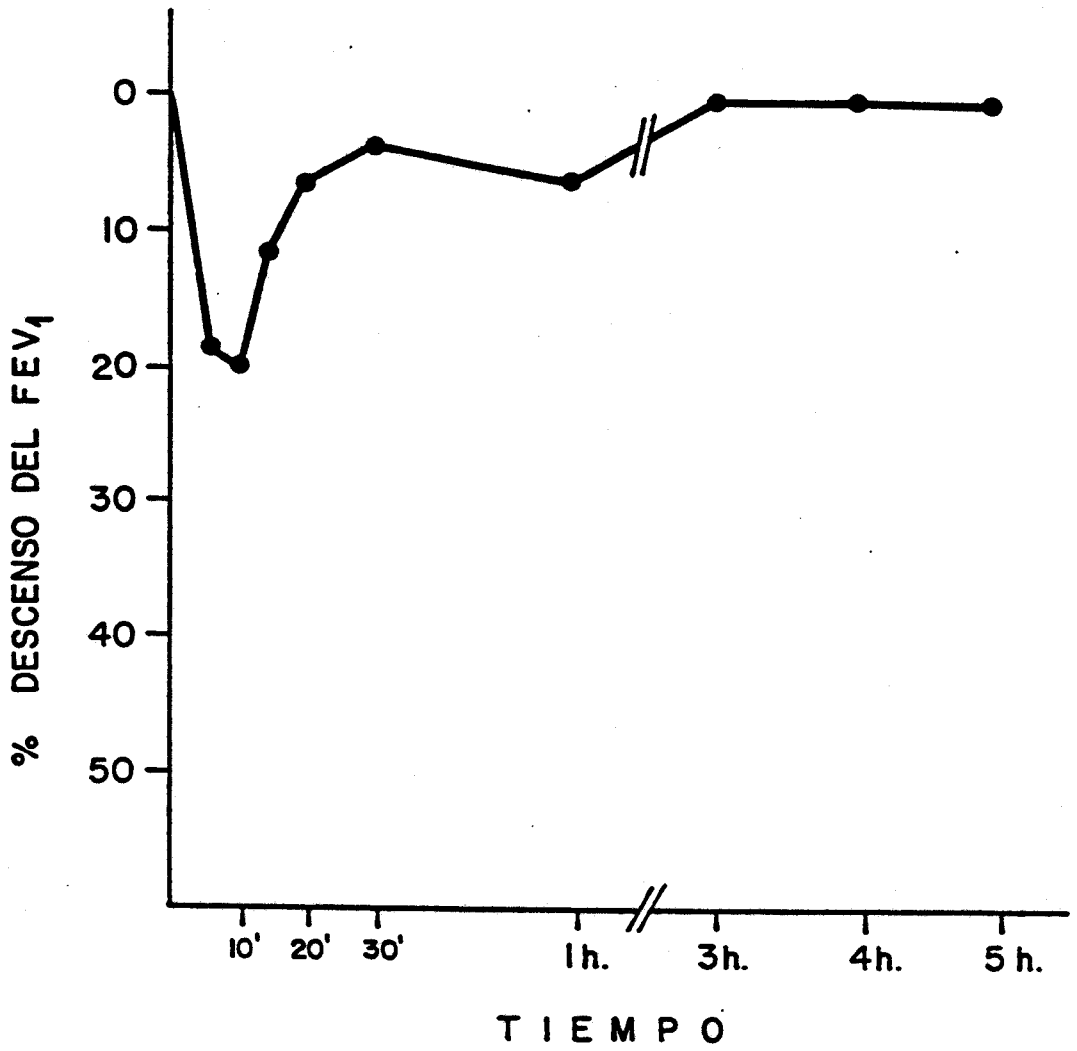
PROVOCACION BRONQUIAL CON CELULASA 0.50 MG.(●-●) Y SU MODIFICACION CON EL PRETATAMIENTO CON 40 MG DE CGDS (○-○) CASO N°81

FIGURA 32



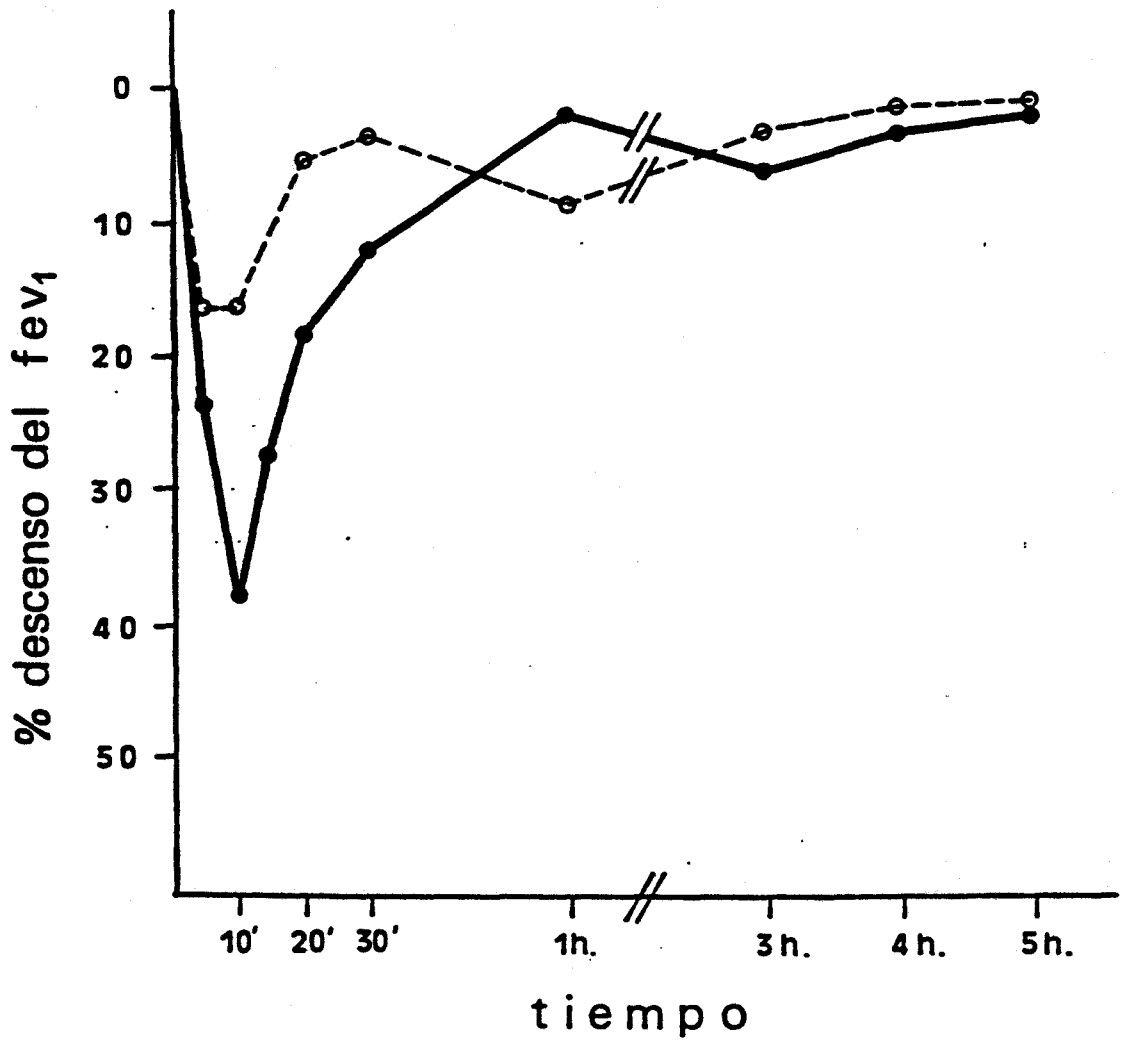
PROVOCACION BRONQUIAL CON LIPASA 0.25 mg  
EN EL CASO N° 81

FIGURA 33



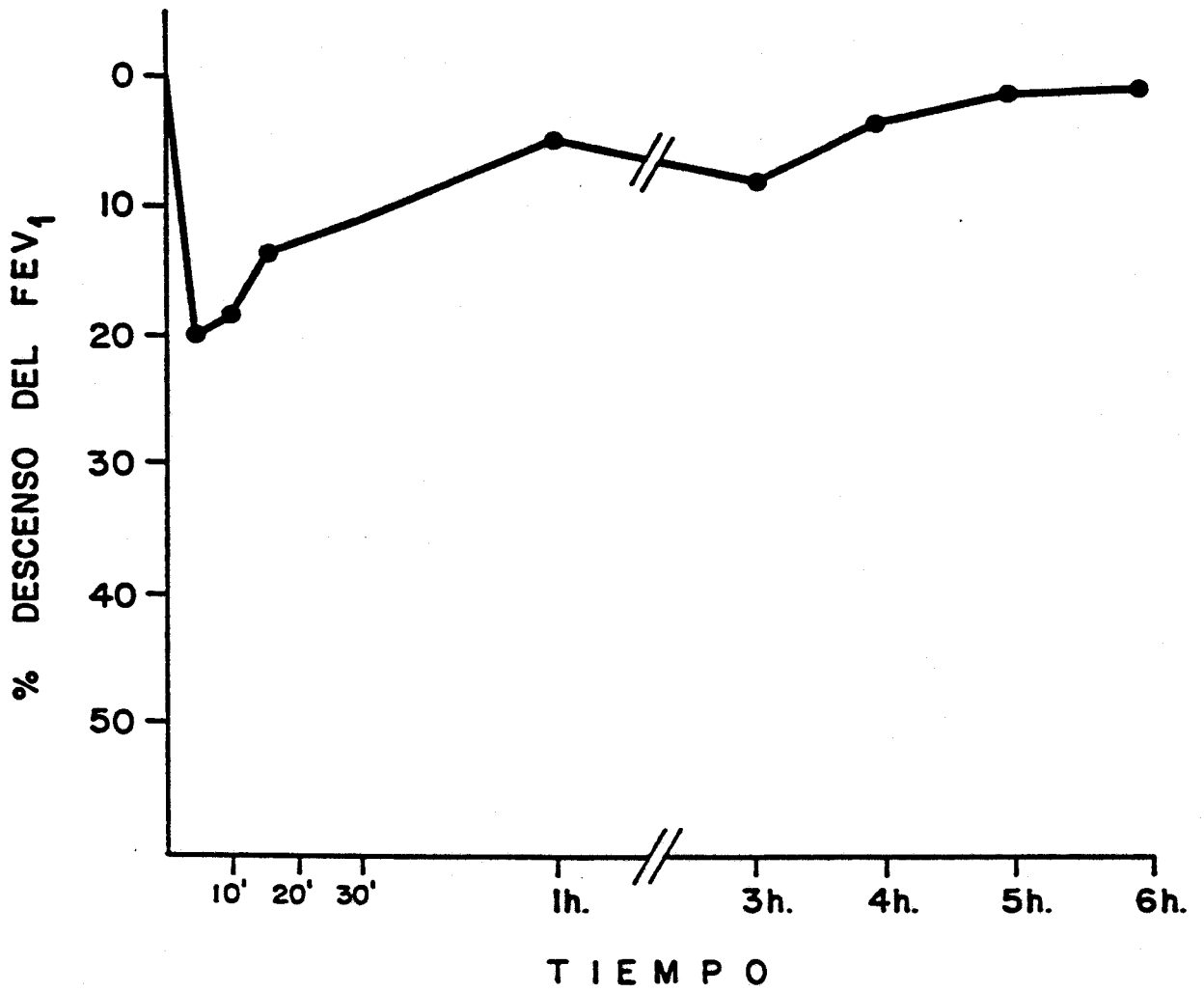
PROVOCACION BRONQUIAL CON ALFA-AMILASA 0.50 mg.  
EN EL CASO N° 17.

FIGURA 34



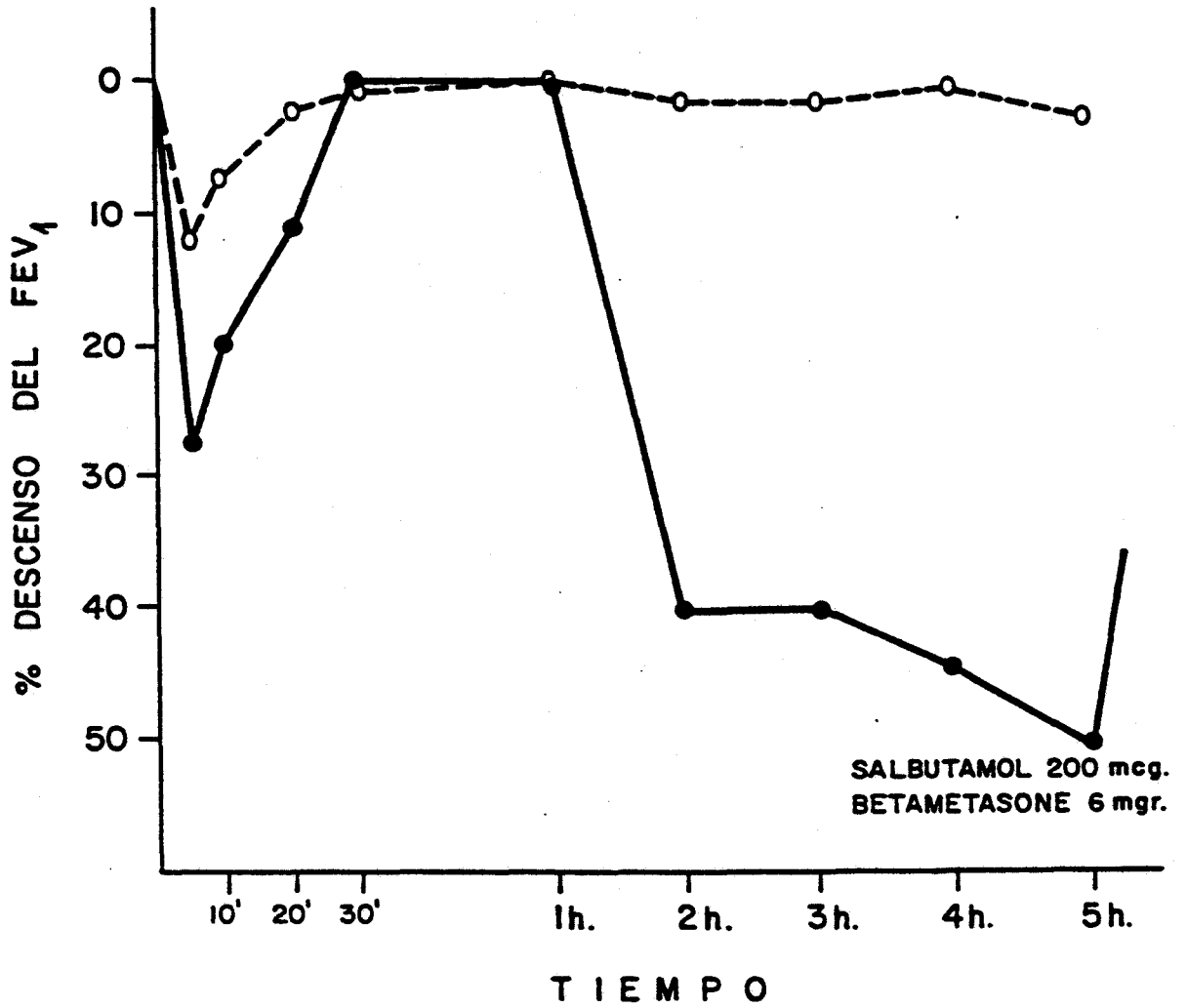
PROVOCACION BRONQUIAL CON ALFA-AMILASA Y MODIFICACION  
DE LA RESPUESTA CON CGDS. (CASO N° 52)

FIGURA 35



PROVOCACION BRONQUIAL CON PAPAINA 0.25 mg.  
RESPUESTA INMEDIATA CASO N° 73.

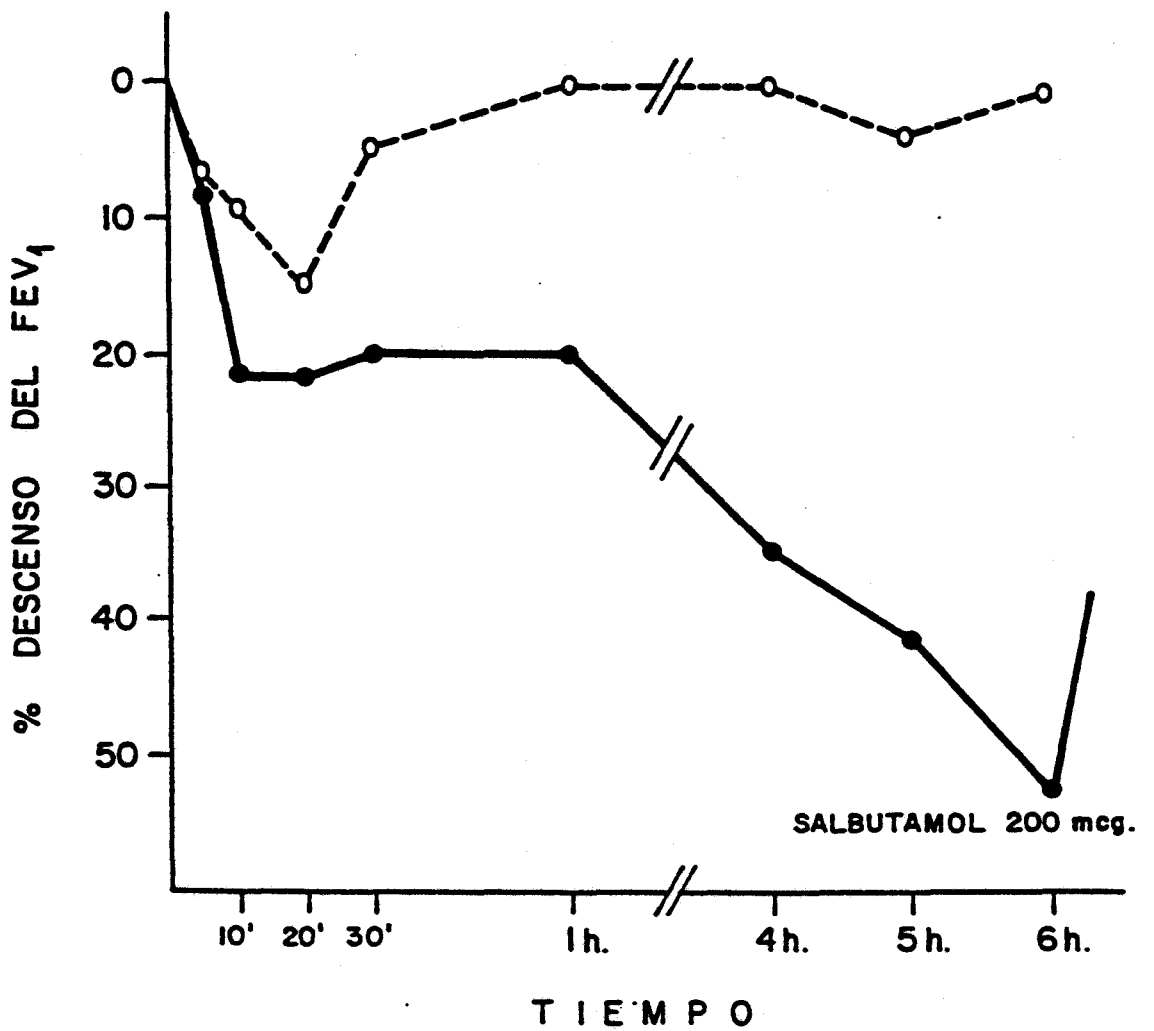
FIGURA 36



SALBUTAMOL 200 mcg.  
BETAMETASONE 6 mgr.

PROVOCACION BRONQUIAL CON PAPAINA 0.1 mg. EN EL CASO Nº 81.  
RESPUESTA DUAL. (●—●) MODIFICACION DE LA RESPUESTA CON  
PRETRATAMIENTO DE 40 mg. CGDS. (O---O)

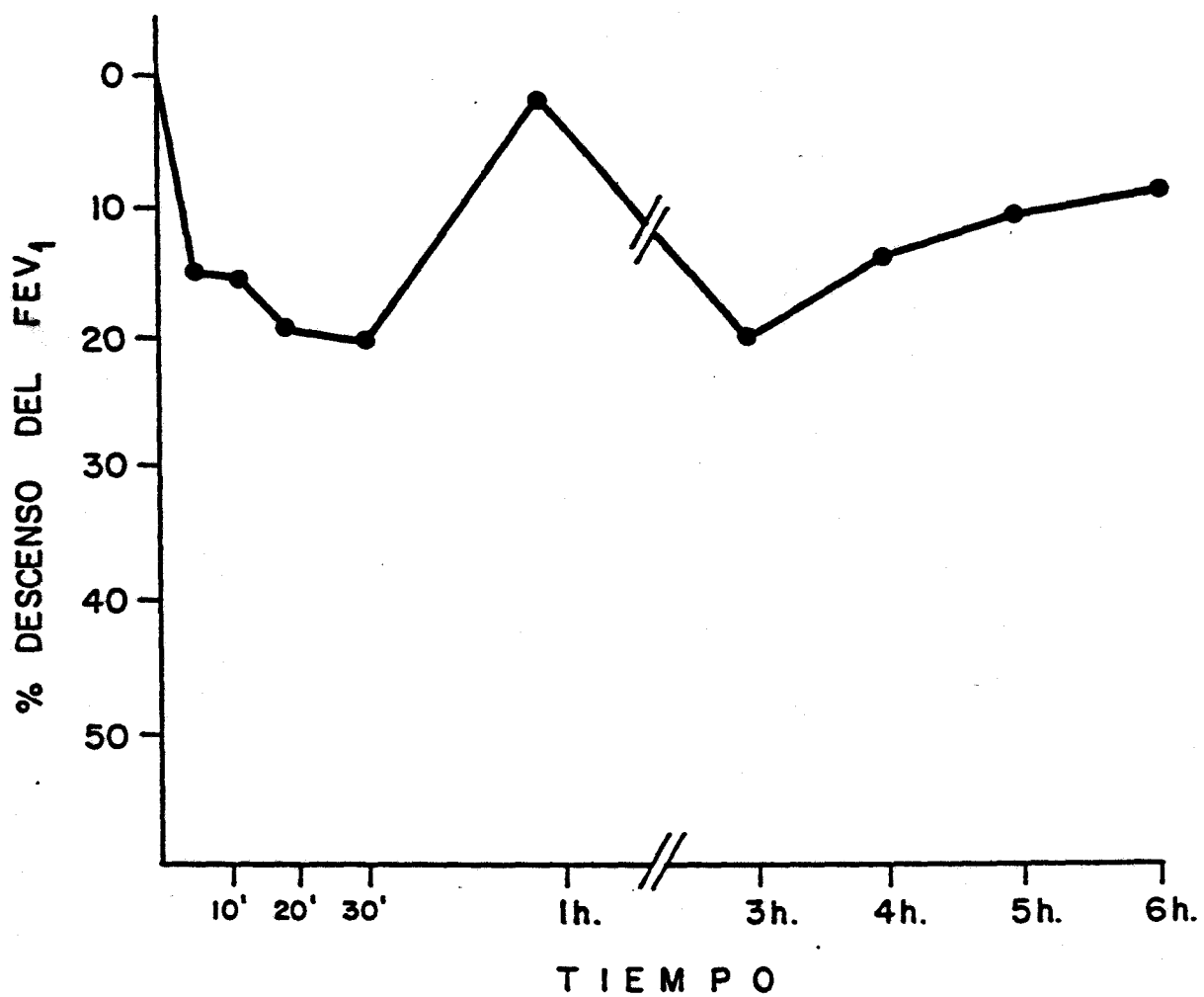
FIGURA 37



PROVOCACION BRONQUIAL CON PAPAINA 0.25 mg. EN EL C  
EN EL CASO N° 82.

RESPUESTA DUAL. (●---●) MODIFICACION DE LA RESPUESTA  
CON EL PRETRATAMIENTO CON 40 mg. DE CGDS. (O---O).

FIGURA 38

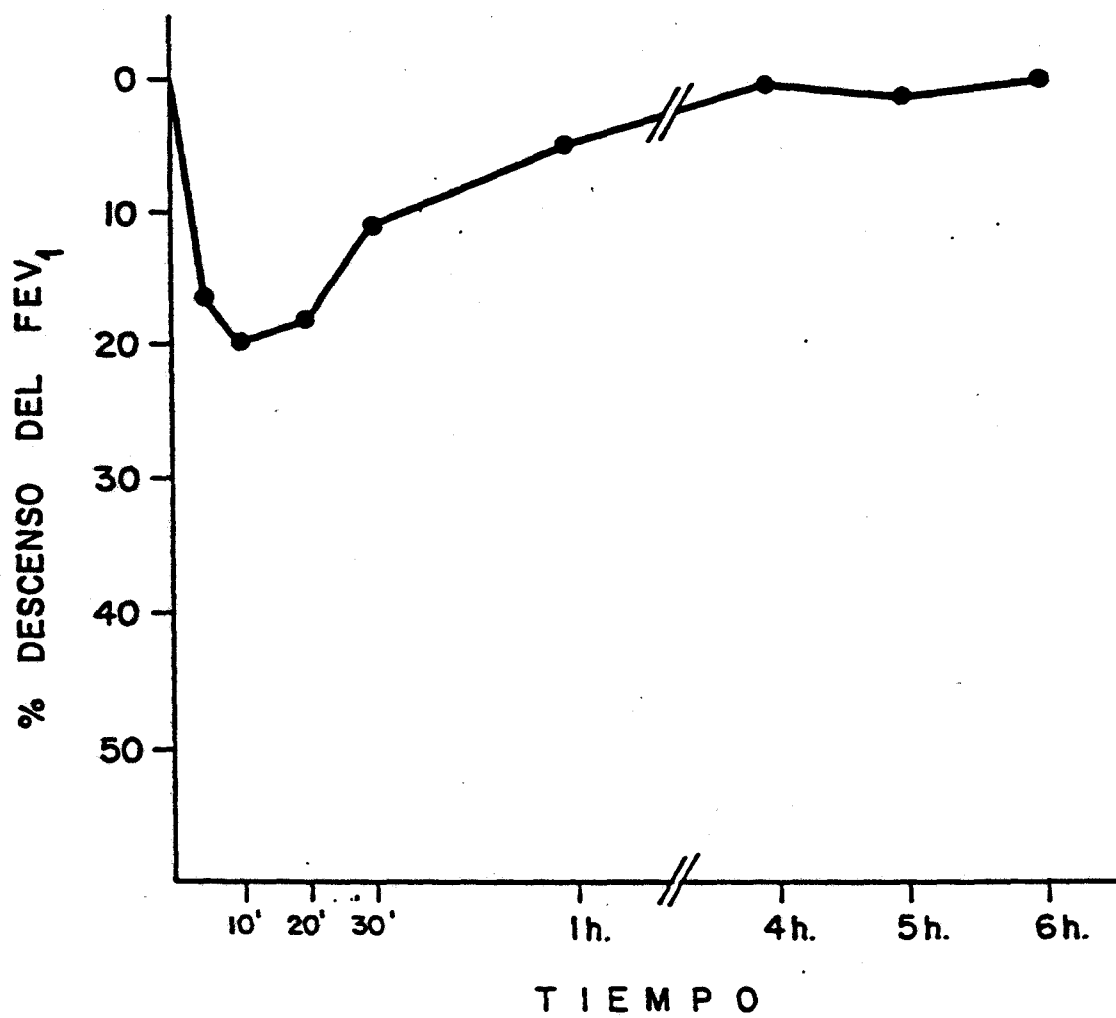


PROVOCACION BRONQUIAL CON BROMELINA 0.25 mg.

RESPUESTA DUAL CASO N° 73.



FIGURA 39



PROVOCACION BRONQUIAL CON BROMELINA 0.25 mg.

RESPUESTA INMEDIATA CASO N° 81.

**TABLA XIV**  
**SINTOMAS NASALES-GRADO DE EXPOSICION**

**TABLA EXPERIMENTAL**

**GRADO DE EXPOSICION**

<b>S. N A S A L E S</b>		<b>ALTA</b>	<b>MEDIA</b>	<b>BAJA</b>	<b>TOTALES</b>
	<b>SI</b>	28	15	4	47
	<b>NO</b>	10	12	11	33
	<b>TOTALES</b>	38	27	15	80

**TABLA TEORICA**

**GRADO DE EXPOSICION**

<b>SINTOMAS NASALES</b>		<b>ALTA</b>	<b>MEDIA</b>	<b>BAJA</b>
	<b>SI</b>	22.3	15.9	8.8
	<b>NO</b>	15.7	11.1	6.2

Chi<sup>2</sup> experimental: 9.98  
Significativo: (p<0.01)  
Grado de Libertad: 2

**TABLA XV**  
**SINTOMAS BRONQUIALES-GRADO DE EXPOSICION**

**TABLA EXPERIMENTAL**

**GRADO DE EXPOSICION**

S. N A S A L E S		ALTA	MEDIA	BAJA	TOTALES
	SI	17	5	2	24
	NO	21	22	13	56
	TOTALES	38	27	15	80

**TABLA TEORICA**

**GRADO DE EXPOSICION**

SINTOMAS		ALTA	MEDIA	BAJA
N A S A L E S	SI	11.4	8.1	4.5
	NO	26.6	18.9	10.5

Chi<sup>2</sup> experimental: 7.61  
Significativo: (p<0.05)  
Grado de Libertad: 2



**TABLA XVI**  
**SINTOMAS NASALES-ANTEC. PERSONALES**

**I.- TABLA EXPERIMENTAL**

**ANTEC. PERSONALES**

S. NASALES

	SI	NO	TOTALES
SI	21	26	47
NO	4	29	33
TOTALES	25	55	80

**II.- TABLA TEORICA**

**ANTEC. PERSONALES**

S. NASALES

	SI	NO
SI	14.6494	32.3506
NO	9.3506	20.6494

Chi<sup>2</sup> experimental. 8.7131  
 Significativo: (p<0.01)  
 Grado de Libertad: 1

## TABLA XVII

## SINTOMAS BRONQUIALES-ANTEC. PERSONALES

## I.- TABLA EXPERIMENTAL

## ANTEC. PERSONALES

	SI	NO	TOTALES
S. BRONQUIALES	13	11	24
	12	44	56
TOTALES	25	55	80

## II.- TABLA TEORICA

## ANTEC. PERSONALES

	SI	NO
S. BRONQUIALES	7.7922	16.2078
	17.2078	35.7922

Chi<sup>2</sup> experimental. 6.1189  
 Significativo: (p<0.05)  
 Grado de Libertad: 1

**TABLA XVIII**  
**SINTOMAS NASALES - TEST CUTANEOS**

ENFERMO	CELULA.	LIPA.	ALFA-(F)	PAPAI.	BROME.	ALFA(C).	TRIP.
1	-	-	+	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	+	+	+	-
9	-	-	-	+	-	-	-
10	-	-	-	+	+	-	+
11	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	+	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-
15	-	+	+	+	+	+	-
17	-	+	+	+	+	+	+
18	-	+	-	+	+	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+	+
24	-	-	+	+	-	-	-
25	-	-	+	-	-	-	-
26	-	-	-	+	-	-	-
27	+	+	+	+	+	+	+
28	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	+	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	+	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-

**TABLA XVIII**  
**SINTOMAS NASALES - TEST CUTANEOS**

ENFERMO	CELULA.	LIPA.	ALFA(F).	PAPAI.	BROME.	ALFA(C).	TRIP.
41	-	-	-	-	-	-	-
43	+	+	+	+	+	-	+
45	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	+	+	+	-	-
47	-	-	-	+	-	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-
52	-	-	+	+	-	+	-
54	-	-	+	+	-	-	-
55	-	-	+	+	+	-	-
56	-	-	-	-	-	-	-
60	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	+	+	-	+	-
65	-	-	+	+	-	-	-
66	-	-	-	+	+	-	-
67	-	-	+	+	+	+	+
68	-	-	+	+	+	-	-
70	-	-	-	-	-	-	-
73	-	-	+	+	+	-	-
78	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-
81	+	+	+	+	+	+	+
82	-	-	-	+	+	-	-
47	4	7	20	26	16	9	7

**TABLA XIX**  
**SINTOMAS BRONQUIALES-TEST CUTANEOS**

ENFERMO	CELULA.	LIPA.	ALFA(F).	PAPAI.	BROME.	ALFA(C).	TRIP.
1	-	-	+	+	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	+	+	+	-
9	-	-	-	+	-	-	-
10	-	-	-	+	+	-	+
12	-	-	-	+	-	-	-
15	-	+	+	+	+	+	-
17	-	+	+	+	+	+	+
18	-	+	-	+	+	-	-
21	+	+	+	+	+	+	+
24	-	-	+	+	+	-	-
27	+	+	+	+	+	+	+
28	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	+	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-
46	-	-	+	+	+	-	-
51	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	+	+	-	+	-
67	-	-	+	+	+	+	+
70	-	-	-	-	-	-	-
78	-	-	-	-	-	-	-
81	+	+	+	+	+	+	+
82	-	-	-	+	+	-	-
24	3	6	12	17	11	9	6



## TABLA XX

## TEST CUTANEOS POSITIVOS-ANTEC. PERSONALES

## I.-CELULASA

## ANTEC. PERSONALES

TEST  
CUTANEOS

	SI	NO	TOTALES
SI	3	1	4
NO	22	54	76
TOTALES	25	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Casi significativo  $p < 0.1$

## II.-LIPASA

## ANTEC. PERSONALES

TEST  
CUTANEOS

	SI	NO	TOTALES
SI	4	2	7
NO	20	53	73
TOTALES	25	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Casi significativo ( $p < 0.1$ )

TABLA XXI

## TEST CUTANEOS POSITIVOS-ANTEC.PERSONALES

## I.- ALFA-AMILASA (F)

## ANTEC. PERSONALES

	SI	NO	TOTALES
TEST CUTANEOS	26	13	26
	NO	42	54
	TOTALES	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo ( $p < 0.01$ )

## II. PAPAINA

## ANTEC. PERSONALES

	SI	NO	TOTALES
TEST CUTANEOS	15	11	26
	NO	44	54
	TOTALES	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo ( $p < 0.001$ )

**TABLA XXII**  
**TEST CUTANEOS POSITIVOS-ANTEC. PERSONALES**

**I. BROMELINA**

**ANTEC. PERSONALES**

TEST  
CUTANEOS

	SI	NO	TOTALES
SI	9	9	18
NO	16	46	62
TOTALES	25	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
 Casi significativo: ( $p < 0.1$ ).

**II ALFA-AMILASA (c)**

**ANTEC. PERSONALES**

TEST  
CUTANEOS

	SI	NO	TOTALES
SI	7	2	9
NO	18	53	71
TOTALES	25	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
 Significativo: ( $p < 0.01$ )

**III TRIPSINA**

**ANTEC. PERSONALES**

TEST  
CUTANEOS

	SI	NO	TOTALES
SI	5	2	7
NO	20	53	73
TOTALES	25	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
 Significativo: ( $p < 0.05$ )

## TABLA XXIII

## TEST CUTANEOS POSITIVOS-GRADO DE EXPOSICION

## I TABLA EXPERIMENTAL

## GRADO DE EXPOSICION

		ALTA	MEDIA	BAJA	TOTALES
TEST	+	23	9	4	36
CUTA.	-	15	18	11	44
TOTALES		38	27	15	80

## II TABLA TEORICA

## GRADO DE EXPOSICION

		ALTA	MEDIA	BAJA
TEST	+	17.1	12.2	6.8
CUTANEOS	-	20.9	14.9	8.3

Chi2 experimental. 7.22  
 Significativo ( $p < 0.05$ )  
 Grado de Libertad: 2

TABLA XXIV

**RELACION ENTRE TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS Y  
EXISTENCIA DE SINTOMAS RESPIRATORIOS**

SENSIBILIZADOS	S. NASALES	S. BRONQUIALES
1	+	+
5	+	+
8	-	-
9	+	+
10	+	+
12	+	+
15	+	+
17	+	+
18	+	+
21	+	+
23	-	-
24	+	+
25	+	-
26	+	-
27	+	+
30	+	-

TABLA XXIV

**RELACION ENTRE TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS Y  
EXISTENCIA DE SINTOMAS RESPIRATORIOS**

SENSIBILIZADOS	S. NASALES	S. BRONQUIALES
35	+	+
42	No contesta	NO contesta
43	+	-
46	+	+
47	+	-
50	-	-
52	+	+
54	+	-
55	+	-
64	+	+
65	+	-
66	+	-
67	+	+
68	+	-
71	-	-
73	+	-
75	-	-
81	+	+
82	+	+
83	-	-
36	29	18

**TABLA XXV**  
**TEST CUTANEOS-SINTOMAS NASALES**

**a) CELULASA**

**SINTOMAS NASALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
CUTANEOS	SI	4	0	4
	NO	43	33	76
	TOTALES	47	33	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
No significativo

**b) LIPASA**

**SINTOMAS NASALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
CUTANEOS	SI	7	0	7
	NO	40	33	73
	TOTALES	47	33	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo: ( $p < 0.05$ )

**TABLA XXVI**

**TEST CUTANEOS-SINTOMAS NASALES**

**a) ALFA AMILASA (F)**

**SINTOMAS NASALES**

		SI	NO	TOTALES
TEST CUTANEOS	SI	20	6	26
	NO	27	27	54
	TOTALES	47	33	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

**b) PAPAINA**

**SINTOMAS NASALES**

		SI	NO	TOTALES
TEST CUTANEOS	SI	26	0	26
	NO	21	33	54
	TOTALES	47	33	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$



**TABLA XXVII**  
**TEST CUTANEOS-SINTOMAS NASALES**

**a) BROMELINA**

**SINTOMAS NASALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
CUTANEOS	SI	16	2	18
	NO	31	31	62
	TOTALES	47	33	80

PRUEBAS EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

**b) ALFA AMILASA (c)**

**SINTOMAS NASALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
CUTANEOS	SI	9	0	9
	NO	38	33	71
	TOTALES	47	33	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

**c) TRIPSINA**

**SINTOMAS NASALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
CUTANEOS	SI	7	0	7
	NO	40	33	73
	TOTALES	47	31	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.05$

**TABLA XXVIII**  
**TEST CUTANEOS-SINTOMAS BRONQUIALES**

**a) CELULASA**

**SINTOMAS BRONQUIALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
	SI	3	1	4
CUTANEOS	NO	21	55	76
	TOTALES	24	56	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
No significativo:

**b) LIPASA**

**SINTOMAS BRONQUIALES**

	SI	NO	TOTALES	
TEST				
	SI	6	1	7
CUTANEOS	NO	18	55	73
	TOTALES	24	56	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo  $p < 0.01$

**TABLA XXIX**  
**TEST CUTANEOS-SINTOMAS BRONQUIALES**

**a) ALFA AMILASA (F)**

**SINTOMAS BRONQUIALES**

		SI	NO	TOTALES
TEST CUTANEOS	SI	12	14	26
	NO	12	42	54
	TOTALES	24	56	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

**b) PAPAINA**

**SINTOMAS BRONQUIALES**

		SI	NO	TOTALES
TEST CUTANEOS	SI	17	9	26
	NO	7	47	54
	TOTALES	24	55	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.001$

## TABLA XXX

## TEST CUTANEOS-SINTOMAS BRONQUIALES

## a) BROMELINA

## SINTOMAS BRONQUIALES

	SI	NO	TOTALES	
TEST CUTANEOS	SI	11	7	18
	NO	13	49	62
	TOTALES	24	56	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

## b) ALFA AMILASA (c)

## SINTOMAS NASALES

	SI	NO	TOTALES	
TEST CUTANEOS	SI	9	0	9
	NO	15	56	71
	TOTALES	24	56	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.001$

## c) TRIPSINA

## SINTOMAS BRONQUIALES

	SI	NO	TOTALES	
TEST CUTANEOS	SI	6	1	7
	NO	18	55	73
	TOTALES	24	56	80

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

## TABLA XXXI

## IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS

## a) CELULASA

## TEST CUTANEOS

	+	-	TOTALES
IgE < 0.150	2	78	80
IgE ≥ 0.150	2	0	2
TOTALES	4	78	82

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo  $p < 0.01$

## b) LIPASA

## TEST CUTANEOS

	+	-	TOTALES
IgE < 0.150	4	75	79
IgE ≥ 0.150	3	0	3
TOTALES	7	75	82

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.001$

## TABLA XXXII

## IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS

## ALFA AMILASA (F)

## I. TABLA EXPERIMENTAL

## TEST CUTANEOS

	+	-	TOTALES
IgE < 0.150	2	37	39
IgE ≥ 0.150	23	20	43
TOTALES	25	57	82

## II. TABLA TEORICA

## TEST CUTANEOS

	+	-
IgE < 0.150	12.1951	27.8049
IgE ≥ 0.150	12.8049	29.1951

Chi<sup>2</sup>: 17.4128

Significativo: p&lt;0.001

Grado de Libertad: 1

**TABLA XXXIII**  
**IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS**  
**PAPAINA**

**I. TABLA EXPERIMENTAL**

**TEST CUTANEOS**

	+	-	TOTALES
IgE < 0.150	11	55	66
≥ 0.150	15	1	16
TOTALES	26	56	82

**II. TABLA TEORICA**

**TEST CUTANEOS**

	+	-
IgE < 0.150	20.9268	45.0732
≥ 0.150	5.0732	10.9268

Chi2: 31.8675

Significativo:  $p < 0.001$

Grado de Libertad: 1

## TABLA XXXIV

## IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS

## a) BROMELINA

## TEST CUTANEOS

	+	-	TOTALES
IgE < 0.150	12	63	75
IgE ≥ 0.150	6	1	7
TOTALES	18	64	82

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo :  $p < 0.001$

## b) ALFA AMILASA (c)

## TEST CUTANEOS

	+	-	TOTALES
IgE < 0.150	8	73	81
IgE ≥ 0.150	1	0	1
TOTALES	9	73	82

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
NO Significativo



## TABLA XXXV

## IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS

## TEST CUTANEOS

IgE

	+	-	TOTALES
< 0.150	8	73	78
≥ 0.150	2	2	4
TOTALES	7	75	82

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo : $p < 0.05$

**TABLA XXXVI**  
**IgG ESPECIFICA-TEST CUTANEOS**  
**PAPAINA**

**I. TABLA EXPERIMENTAL**

**TEST CUTANEOS**

	SI	NO	TOTALES
IgG < 0.150	3	25	28
≥ 0.150	23	31	54
<b>TOTALES</b>	26	56	82

**II. TABLA TEORICA**

**TEST CUTANEOS**

	+	-
IgG < 0.150	8.878	19.122
≥ 0.150	17.122	36.878

Chi2: 7.244  
 Significativo:  $p < 0.01$   
 Grado de Libertad: 1

TABLA XXXVII

PROVOCACION INHALATIVA CON CELULASA EN TRABAJADORES CON  
TEST CUTANEOS POSITIVOS

Nº	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
21	-	+
27	N.R.	N.R.
43	+	-
81	+	N.R.

N.R. : NO REALIZADO

TABLA XXXVIII

PROVOCACION INHALATIVA CON ALFA AMILASA (F) EN TRABAJADORES  
CON TEST CUTANEOS POSITIVO

PACIENTE N°	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
1	-	+
8	N.R.	N.R.
15	-	N.R.
17	+	N.R.
21	N.R.	N.R.
23	N.R.	N.R.
24	N.R.	N.R.
25	+	+
27	-	N.R.
30	+	-
35	N.R.	+
42	N.R.	N.R.
43	-	N.R.

TABLA XXXVIII

PROVOCACION INHALATIVA CON ALFA AMILASA (F) EN TRABAJADORES  
CON TEST CUTANEOS POSITIVO

PACIENTE Nº	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
46	+	-
52	+	+
54	N.R.	-
55	-	N.R.
64	N.R.	N.R.
65	-	-
67	N.R.	N.R.
68	-	+
71	N.R.	+
73	-	N.R.
75	N.R.	-
81	+	N.R.
83	N.R.	N.R.

TABLA XXXIX

## PROVOCACIONES INHALATIVAS CON PAPAINA EN TRABAJADORES CON TEST CUTANEOS POSITIVOS

PACIENTE Nº	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
1	-	+
5	N.R.	N.R.
9	N.R.	N.R.
10	N.R.	N.R.
12	N.R.	N.R.
15	+	N.R.
17	+	N.R.
18	N.R.	N.R.
21	N.R.	N.R.
24	+	+
26	N.R.	N.R.
27	-	-
43	+	+

TABLA XXXIX

PROVOCACIONES INHALATIVAS CON PAPAÑA EN TRABAJADORES CON  
TEST CUTANEOS POSITIVOS

PACIENTE Nº	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
46	+	+
47	N.R.	N.R.
52	+	+
54	N.R.	N.R.
55	-	+
64	N.R.	N.R.
65	-	+
66	N.R.	+
67	N.R.	N.R.
68	-	+
73	+	+
81	+	N.R.
82	+	N.R.

**TABLA XL**  
**PROVOCACIONES INHALATIVAS CON BROMELINA EN TRABAJADORES**  
**CON TEST CUTANEOS POSITIVOS**

PACIENTE Nº	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
5	N.R.	N.R.
10	N.R.	N.R.
15	+	N.R.
17	+ .	N.R.
18	N.R.	N.R.
21	N.R.	N.R.
27	N.R.	N.R.
43	+	N.R.
46	-	+
50	N.R.	N.R.
55	-	+
66	N.R.	-
67	N.R.	N.R.
68	-	-
73	+	N.R.
75	N.R.	-
81	+	N.R.
82	N.R.	N.R.



## TABLA XLI

**PROV. INHALATIVA-TEST CUTANEOS POSITIVOS Y GRUPO CONTROL  
(ASMATICOS ATOPICOS NO EXPUESTOS)**

## I. CELULASA

## TEST CUTANEOS

		+	-
PROV. INHALATI.	+	3	0
	-	0	10

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

## II. BROMELINA

## TEST CUTANEOS

		+	-
PROV. INHALATI.	+	7	0
	-	3	10

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

## III. ALFA AMILASA (F)

## TEST CUTANEOS

		+	-
PROV. INHALATI.	+	10	0
	-	8	10

PRUEBA EXACTA DE FISHER  
Significativo:  $p < 0.01$

**TABLA XLII**  
**PROVOCACION INHALATIVA-NIVELES DE IGE ESPECIFICA**  
**PAPAINA**

**I. TEST CUTANEOS POSITIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
1	0.021	-	+
15	3.098	+	N.R.
17	8.000	+	N.R.
24	1.975	+	+
27	0.032	-	-
43	0.174	+	+
46	1.350	+	+
52	0.059	+	+
55	0.058	-	+
65	0.200	-	+
66	0.260	N.R.	+
68	0.061	-	+
73	10.536	+	+
81	7.200	+	N.R.
82	5.672	+	N.R.

**II. TEST CUTANEOS NEGATIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
25	0.085	+	+
30	0.071	N.R.	-
75	0.048	N.R.	-

**TABLA XLIII**  
**PROVOCACION INHALATIVA-NIVELES DE IGE ESPECIFICA**  
**BROMELINA**

**I. TEST CUTANEOS POSITIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
15	0.367	+	N.R.
17	0.689	+	N.R.
43	0.066	+	N.R.
46	0.125	-	+
55	0.087	-	+
66	0.097	N.R.	-
68	0.046	-	-
73	0.127	+	N.R.
75	0.082	N.R.	-
81	3.900	+	N.R.

**II. TEST CUTANEOS NEGATIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
1	0	-	N.R.
25	0.103	+	N.R.
30	0.088	N.R.	-
52	0.075	-	-
65	0.003	-	N.R.

**TABLA XLIV**  
**PROVOCACION INHALATIVA-NIVELES DE IGE ESPECIFICA**  
**CELULASA**

**I. TEST CUTANEOS POSITIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
21	0.017	-	+
43	0.340	+	-
81	3.800	+	N.R.

**II. TEST CUTANEOS NEGATIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
17	0.129	-	N.R.
24	0.095	+	N.R.
68	0.068	-	N.R.

**TABLA XLV**  
**PROVOCACIONES INHALATIVAS-NIVELES DE IGE ESPECIFICA**  
**ALFA AMILASA (F)**  
**TEST CUTANEOS POSITIVOS**

Nº	IGE	PROV. BRONQUIAL	PROV. NASAL
1	0.175	-	+
15	0.171	-	N.R.
17	5.800	+	N.R.
25	0.794	+	+
27	2.970	-	N.R.
30	0.246	+	-
35	0.779	N.R.	+
43	0.384	-	N.R.
46	0.606	+	-
52	0.871	+	+
54	0.450	N.R.	-
55	0.340	-	N.R.
65	0.502	-	-
68	0.284	-	+
71	1.913	N.R.	+
73	0.330	-	N.R.
75	0.115	N.R.	-
81	0.422	+	N.R.



**TABLA XLVI**  
**RESULTADOS DE LOS TEST CUTANEOS Y DE LAS PROVOCACIONES**  
**INHALATIVAS EN TRABAJADORES CON CLINICA RESPIRATORIA**  
**TEST CUTANEOS                      PROVOCACION INHALATIVA**

PACIENTE	C	L	A.A	P	B	C	L	A.A	P	B
41	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
43	+	+	+	+	+	+	N.R.	-	+	+
45	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
46	-	-	+	+	+	N.R.	N.R.	+	+	+
47	-	-	-	+	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
51	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
52	-	-	+	+	-	N.R.	N.R.	+	+	-
54	-	-	+	+	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
55	-	-	+	+	+	N.R.	N.R.	-	+	+
56	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
60	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
62	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
64	-	-	+	+	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
65	-	-	+	+	-	N.R.	N.R.	-	+	-
66	-	-	-	+	+	N.R.	N.R.	N.R.	+	-
67	-	-	+	+	+	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
68	-	-	+	+	+	-	N.R.	+	+	-
70	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
73	-	-	+	+	+	N.R.	N.R.	-	+	+
78	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
80	-	-	-	-	-	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.	N.R.
81	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
82	-	-	-	+	+	N.R.	N.R.	N.R.	+	N.R.
47	4	7	20	26	16	6/4	1/1	15/9	17/15	14/8

**CAPITULO IV**

**DISCUSION**



## DISCUSION

### I. ESTADISTICA DESCRIPTIVA.

#### 1. CUESTIONARIO CLINICO

El primer dato que llama la atención es la alta prevalencia de sintomatología respiratoria, nasal y/o bronquial, presentada por los trabajadores expuestos al polvo de los enzimas utilizados en la Industria Farmacéutica.

En el 58,75% de los 80 trabajadores que contestaron a este punto (47 trabajadores) se recogía la existencia de síntomas nasales y/o bronquiales que en su mayor parte, en 41, los relacionaba con su medio laboral (87,3%).

Esta prevalencia de sintomatología sospechosamente inducida por los enzimas a los que estaban expuestos, está en concordancia con la señalada en la literatura existente, si bien con series menos numerosas (72) (74).

De los 47 trabajadores sintomáticos referían síntomas sugestivos de asma bronquial 24, lo que representa el 51% de los sintomáticos y el 30% del total de la muestra.

Dos hechos podían influir o facilitar la sintomatología clínica: el grado de exposición y la existencia de antecedentes personales o familiares atópicos. La posible interrelación entre ambos factores será discutida más adelante, pero es necesario hacer aquí algunas puntualizaciones.

Respecto al grado de exposición, toda la población encuestada refería estar expuesto, en mayor o menor grado al polvo de los enzimas utilizados en su trabajo; en 38 (45,5%) el grado de exposición era alto, en 27 (33,7%) de grado medio y en 15 (18,8%) el grado de exposición fue considerado como bajo. Evidentemente este hecho condicionó el participar en el estudio, ya que otros trabajadores (el total de los empleados era 150), al no estar sometidos a ningún tipo de exposición aparente y, muy

probablemente, asintomáticos, no participaron en el estudio.

Que el grado de exposición influye de forma muy importante en la aparición de patología respiratoria ocupacional, es un hecho constatado en muchos trabajos, aunque no siempre se precisan exposiciones elevadas para desencadenar el cuadro clínico, ya que pequeñas y no siempre prolongadas exposiciones, han sido reconocidas como causa de asma ocupacional (35)(36)(56)(156).

Respecto al tiempo de exposición, en nuestra muestra no parece ser un factor determinante. La mayoría de los trabajadores sintomáticos comenzó a presentar síntomas a los pocos años de estar en el trabajo, con un tiempo medio de 4 años y una desviación típica de 3.

La existencia de antecedentes familiares y personales alérgicos en los trabajadores eran positivos en el 23,7% y 31,3% respectivamente. Pero si consideramos solamente los trabajadores sintomáticos estas cifras se elevan al 44,6% en lo que respecta a antecedentes personales en trabajadores con síntomas nasales y al 54,4% en los trabajadores que además referían sintomatología bronquial.

Este hecho, es decir la existencia de antecedentes atópicos, especialmente personales, ha sido uno de los posibles factores predisponentes más señalados como facilitadores de la aparición de asma ocupacional de origen alérgico.

Parece obvio que las personas atópicas son susceptibles de desarrollar asma bronquial ocupacional por sensibilización a las sustancias a las que están expuestos en el medio laboral, en mayor medida que los trabajadores igualmente expuestos pero sin antecedentes atópicos. Este hecho ha sido ampliamente demostrado en diversas industrias (sales de platino polvo de cereales, bacilo subtilis, animales de laboratorio y otras) (1) (146) (157) (158) (159).

En cambio no ha podido establecerse esta asociación en otros tipos de

exposiciones industriales, especialmente en las industrias donde se utilizan sustancias de bajo peso molecular, como isocianatos, ac. plicático, etc. (160).

Mas adelante valoraremos en que medida la atopía facilita o favorece la presencia de sintomatología y/o de sensibilización a los enzimas mencionados.

## 2. TEST CUTANEOS

En la Tabla IX se recogen el total de trabajadores sensibilizados, test cutáneos positivos, a alguno de los enzimas a los que estaban expuestos o a otros enzimas teóricamente relacionados y a los que, en principio, no estaban expuestos, como Bromelina, Tripsina, y Alfa Amilasa procedente de pàncreas de cerdo.

En total son 36 trabajadores los que presentaban test cutáneos positivos a alguno de los enzimas testados, lo que representa el 43,3% del total de trabajadores estudiados.

De todos los enzimas testados, la Papaína y la Alfa Amilasa procedente del aspergillus orizae, a lo que hemos llamado "F" (la utilizada en la fábrica), son los que se encuentran positivos en mayor número de trabajadores, 26 en ambos casos, lo que representa que el 31,3% de todos los expuestos estaban sensibilizados a estos enzimas.

Estos datos, al menos en lo que respecta a la Papaina, son superponibles a los recogidos en la literatura. Los autores que han estudiado este problema encuentran porcentajes de sensibilización superponibles o incluso superiores, si bien en series de trabajadores menos numerosos (73). Este hecho demuestra el alto poder sensibilizante de este enzima, como ya habíamos señalado en trabajos previos (70) (75).

Respecto a la Alfa Amilasa (F), existen muy pocas descripciones en la literatura. Flindt (80) encuentra que de 8 trabajadores expuestos a polvo de este enzima, 7 presentaban test cutáneos positivos. Nuestro grupo, en una publicación anterior (81), hizo hincapié en la alta prevalencia de sensibilización a este enzima en los trabajadores expuestos al mismo.

La sensibilización a los otro enzimas a los que estaban expuestos fue menos llamativa.

En el caso de la Celulasa, enzima procedente del aspergillus niger,

solamente 4 trabajadores presentaban test cutáneos positivos, y 7 lo estaban a la Lipasa, enzima procedente del páncreas de cerdo. Hay que señalar que ninguno de estas enzimas, Celulasa y Lipasa, han sido reconocidos como agentes etiológicos de asma bronquial, siendo nuestra publicación (79) sobre 2 trabajadores con asma ocupacional por sensibilización a Celulasa, la primera descripción mundial al respecto y creemos que este trabajo aporta igualmente la primera referencia a la Lipasa como inductora de asma ocupacional.

Otro hecho importante que hay que señalar, es la existencia de sensibilizaciones a otros enzimas a los que no estaban expuestos, al menos de forma conocida, como era el caso de la Bromelina, Tripsina y Alfa Amilasa (C). El número de trabajadores sensibilizados a la Bromelina era considerable, 18, mientras que para la Tripsina y Alfa Amilasa (c) eran menos llamativo ya que se encontró en 7 y 9 respectivamente.

La sensibilización frente a Bromelina, enzima vegetal procedente de la piña, en trabajadores expuestos y sensibilizados a Papaína es un hecho ya descrito (76), y se ha demostrado igualmente la existencia de reactividad cruzada entre ambas enzimas, lo que explicaría la sensibilización a Bromelina, sin estar expuesto al mismo, en los trabajadores expuestos y sensibilizados a la Papaína (77) (78) (161). Ambos hallazgos son confirmados en este trabajo.

Respecto a la sensibilización a Tripsina y Alfa Amilasa, procedente de páncreas de cerdo, existen pocas referencias bibliográficas, (83) y no hay comprobación de la posible reactividad cruzada entre ambos o con la Lipasa, hecho probable al tener el mismo origen.

En aquellos trabajadores sensibilizados a los que se realizó el test transferencia pasiva (P.K.), se comprobó la positividad del mismo, así como su negatividad al calentar el suero (56 grados durante 2 horas), lo que demuestra que la sensibilización era debida a un anticuerpo de la clase IgE.

### 3. TEST "IN VITRO"

#### A) IgE ESPECIFICA

En la Tabla X se recogen los valores medios y la desviación típica de la IgE específica para cada enzima y los valores obtenidos en los controles no expuestos.

Al separar el total de trabajadores en dos grupos, dependiendo del resultado de los test cutáneos se obtienen unos valores que quedan reflejados en la Tabla XI.

Ha sido demostrado anteriormente, y así esta reflejado en la literatura existente sobre el tema, que el asma ocupacional inducido por enzimas se produce por un mecanismo inmunológico, IgE dependiente. (64) (67) (70) (71) (77) (79) (81).

Se pretendía demostrar este mismo tipo de respuesta en nuestros pacientes y encontrar una asociación significativa entre presencia de IgE específica y test cutáneos positivos. Este aspecto será discutido más adelante, en el apartado correspondiente a Estadística Analítica.

#### B) IgG ESPECIFICA

En las Tablas XII-XIII se recogen igualmente los valores de IgG para cada enzima en el grupo de trabajadores y en los controles no expuestos. Se hicieron igualmente 2 grupos, uno con los trabajadores que tenían test cutáneos positivos y otro con los que presentaban test cutáneos negativos.

Al igual que con la IgE específica, se pretendía de mostrar, si es que existía, la posible asociación entre ambos hechos, es decir si la presencia de IgG específica se asocia, de algún modo, con la existencia de test cutáneos positivos.

No ha sido explicado adecuadamente el papel que la IgG puede desempeñar en la patología que nos ocupa, pero es una realidad, de observación no infre-

cuenta, que en ocasiones la existencia de IgG específica va unida a respuestas tardías en los test cutáneos y a respuestas duales o tardías en los test de provocación bronquial. (69) (70) (162) (163).

### C) REACTIVIDAD CRUZADA

Como ya ha sido señalado en la literatura (77) (78) la existencia de reactividad cruzada entre Papaína y Bromelina, enzimas de origen vegetal, ha podido ser demostrada en este trabajo, empleando la técnica de REIA inhibición. (Figura 27, 28).

De los resultados obtenidos en este trabajo se deduce que la actividad IgE-Papaína se inhibe en menor cuantía al añadir Bromelina que cuando el ensayo se realiza de forma inversa, es decir, la Papaína inhibe en mayor cuantía la actividad IgE-Bromelina.

Este fenómeno, de distinto poder de inhibición de un enzima sobre el otro, se puede explicar por la existencia de determinantes antigénicos comunes entre Papaína y Bromelina, pero no en la misma cuantía de modo que la Papaína contendría la mayoría de los determinantes antigénicos de la Bromelina mientras que este enzima contendría menor número de determinantes antigénicos de la Papaína.

Recientemente en uno de nuestros trabajos se pudo demostrar la existencia de reactividad cruzada entre la Celulasa y el hongo productor de dicho enzima, el *Aspergillus Niger* (79) (Figura 29).

La existencia de reactividad cruzada entre un hongo y el enzima que producen no había sido señalado en la literatura. Esta aportación abre importantes vías de investigación para dilucidar el complejo problema de la hipersensibilidad a hongos.

#### **4. PROVOCACIONES INHALATIVAS**

En las figuras 30 a 39 se reflejan los tipos de respuesta bronquial, la cuantificación de las mismas y su modificación con el pretratamiento con cromoglicato disódico (CGDS).

En la mayor parte de los casos se obtuvieron respuestas inmediatas y, en algunos casos, con Papaína y Bromelina, se obtuvo una respuesta dual.

El empleo de C.G.D.S. 30' antes de la prueba modificaba considerablemente la respuesta, tanto si sólo era inmediata como si era dual.

La respuesta inmediata aparecía a los pocos minutos de la realización del test y, en general, revertía espontáneamente en horas. La respuesta tardía aparecía varias horas después de comenzar la prueba y a veces requería tratamiento broncodilatador y esteroideo para su resolución.

La mejoría o disminución de la respuesta bronquial conseguida con el pretratamiento con C.G.D.S. es un hecho comprobado repetidamente en trabajos previos (128) (129) lo que apoyaría, en estos casos, que dicha respuesta obedece a una liberación de mediadores inducida por mecanismo inmunológico IgE dependiente.

Respecto a la modificación-inhibición de la siempre discutida respuesta tardía, por parte del C.G.D.S. sugiere el papel fundamental que la IgE desempeña en la aparición de esa respuesta dual (130) (131).

En algunos de nuestros pacientes era más significativa la inhibición de la respuesta tardía que la conseguida en la respuesta inmediata, cuando se empleaba C.G.D.S. previamente en la prueba (figura 36 y 37).

La provocación inhalativa nasal fue positiva en varios trabajadores con test cutáneos positivos y clínica nasal y/o bronquial. Aunque su utilidad es menor que el



test de provocación bronquial, especialmente en la patología que nos ocupa, no podemos olvidar que en algunos casos de patología respiratoria de origen ocupacional, la clínica puede circunscribirse únicamente a la nariz, en cuyo caso se impone realizar el test de provocación nasal con las limitaciones propias del mismo (150). Al no disponer de Rinomanometría, valoramos, con los controles pertinentes, la presencia de bloqueo del orificio nasal testado, estornudos, prurito e hidrorrea.

Al valorar los porcentajes de positividad con los distintos enzimas nos encontramos que en el caso de la Papaína se obtuvieron test positivos en el 93,4% de los trabajadores testados, con la Bromelina en el 70%, con la Celulasa en el 66,6% y con la Alfa Amilasa (F) en el 55,5%. Con Lipasa solamente se realizó el test de provocación bronquial en un trabajador, siendo el resultado positivo y no se realizaron provocaciones inhalativas con Tripsina y Alfa Amilasa (C).

## II. ESTADISTICA ANALITICA

### 1. SINTOMATOLOGIA CLINICA

Como hemos comentado anteriormente en el 58,75% de los trabajadores encuestados (en 47 trabajadores), se recogía la existencia de sintomatología clínica nasal. La mayoría de ellos, 41, relacionaban esta sintomatología con el medio laboral. En 24 de los 47 trabajadores sintomáticos, se recogía la existencia de síntomas sugestivos de asma bronquial ocupacional.

¿ En qué medida los factores de riesgo, como el grado de exposición o la existencia de antecedentes alérgicos, influyen en la aparición de sintomatología clínica ?

¿ Existe asociación entre la existencia de sintomatología respiratoria y los resultados de los test cutáneos?.

Vamos a analizar estos hechos.

#### A) SINTOMATOLOGIA CLINICA-GRADO DE EXPOSICION

En el grupo de los 47 trabajadores que presentaban síntomas nasales, 28 estaban sometidos a un grado de exposición considerado como alto, 15 estaban expuestos a lo que consideramos como grado medio y en 4 la exposición fue valorada como baja.

En los 24 trabajadores que referían síntomas bronquiales, 17 pertenecían al grupo de exposición alta, 5 al grupo de exposición media y solamente 2 estaban en el grupo considerado de baja exposición (Tablas XIV y XV).

Utilizando para el análisis de ambas muestras la prueba del  $\chi^2$ , nos encontramos que esta asociación, sintomatología clínica-grado de exposición, es estadísticamente significativa, con  $p < 0.01$  para el grupo de trabajadores con síntomas nasales y  $p < 0.05$  para el grupo que refería síntomas bronquiales.

Estos hechos apoyan la idea referida en la literatura de que la exposición

es un factor facilitador de la aparición de asma ocupacional, aunque no siempre es preciso que la misma sea intensa y prolongada (35) (56) (156).

### B) SINTOMATOLOGIA CLINICA-ANTECEDENTES ALERGICOS

La existencia de antecedentes atópicos es otro de los factores facilitadores de la aparición de asma ocupacional y así ha sido referido en la literatura para algunas industrias (1) (157) (158) (159), pero en otros casos no ha podido demostrarse esta posible influencia (113) (160).

En nuestro trabajo se demuestra que existe una aso-

ciación significativa entre la existencia de antecedentes personales atópicos y sintomatología clínica.

De los 47 trabajadores que presentaban síntomas nasales se recogían antecedentes personales alérgicos en 21 (44,6%) de los 24 trabajadores que referían síntomas de asma bronquial en 13 (54,4%) existían antecedentes alérgicos.

Utilizando para su análisis la prueba del  $\chi^2$  (Tablas XVI-XVII) se encuentra una asociación significativa con  $p < 0.01$  y  $p < 0.05$  respectivamente, para los que presentaban sintomatología nasal y bronquial.

### C) SINTOMATOLOGIA CLINICA-TEST CUTANEOS

A la vista de los resultados obtenidos llaman la atención varios aspectos.

El primero de ellos es que no en todos los que referían sintomatología se comprobó con la existencia de sensibilización a los enzimas a los que estaban expuestos. Bien es verdad que de los 47 trabajadores que referían presentar síntomas nasales solo 41 los relacionaba con su medio laboral y solo 24 referían sintomatología bronquial.

De todos los trabajadores sintomáticos en solamente 36 se demostró la

existencia de test cutáneos positivos, por tanto en algunos casos la sintomatología nada tenía que ver, en principio, con una sensibilización a los enzimas a los que estaban expuestos. Y este hecho era más notario en el caso de los que referían sintomatología nasal. De los 47 que presentaban síntomas nasales en 18 no se demostró sensibilización alguna(40%) mientras que los que referían síntomas bronquiales, 24, sólomente 6 no se comprobó sensibilización cutánea (25%).

Parece evidente que la sintomatología de vías bajas era más específica respecto a la sensibilización cutánea que la sintomatología nasal, cuyo origen, más heterogéneo, y su expresión más banal, condiciona en gran medida su inespecificidad. (Tablas XVIII-XIX).

## 2. TEST CUTANEOS

En la Tabla IX se recogen el total de trabajadores sensibilizados a alguno de los enzimas testados. En total son 36 (43.3%) trabajadores los que presentan test cutáneos positivos. De ellos 4 tenían test cutáneos positivos frente a la Celulasa, 7 con Lipasa, 26 con Alfa Amilasa (F), 26 a Papaina 18 con Bromelina, 9 con Alfa Amilasa (C) y 7 con Tripsina.

Ya hemos mencionado anteriormente que esta elevada prevalencia de sensibilización en trabajadores expuestos a alguno de los enzimas mencionados, ha sido señalado en la literatura (73) (80).

En nuestra opinión era muy importante relacionar esta sensibilización con otro parámetro que pudieran influir en la misma, como son la existencia de antecedentes alérgicos y el grado de exposición, así como demostrar, que esta sensibilización estaba en relación con la presencia de sintomatología o que la sintomatología referida estaba asociada a la presencia de test cutáneos positivos.

### A) TEST CUTANEOS-ANTECEDENTES ALERGICOS

Para su estudio se utilizó la prueba exacta de FISSHER, encontrándose para todos los enzimas una asociación significativa entre ambas variables con  $p < 0.1$  para Celulasa, Lipasa y Bromelina,  $p < 0.05$  para Tripsina y  $p < 0.01$  para Alfa Amilasa (F) y (c) y  $p < 0.001$  para Papaína. Los resultados quedan reflejados en las Tablas XX a XXII.

Estos datos apoyan lo anteriormente apuntado en el sentido de que la existencia de antecedentes personales alérgicos facilita la sensibilización a estas sustancias y la aparición de sintomatología clínica.

### B) TEST CUTANEOS-GRADO DE EXPOSICION

No se pudo establecer esta asociación si analizamos cada enzima de forma individual, dada la escasez de la muestra con alguno de ellos. Pero si consideramos el número total de trabajadores sensibilizados, si se puede establecer una asociación significativa entre ambas variables.

De los 36 trabajadores sensibilizados, 23 estaban sometidos a un grado de exposición alta, 9 pertenecían al grupo de exposición media y 4 al de baja exposición. Para el análisis de la muestra se utilizó la prueba del Chi<sup>2</sup> encontrándose una asociación significativa ( $p < 0.05$ ) entre sensibilización cutánea y grado de exposición. Tabla XXIII.

### C) TEST CUTANEOS-SINTOMATOLOGIA CLINICA

¿ Qué especificidad tenían los test cutáneos positivos en relación con la existencia de clínica bronquial o nasal ?.

En la Tabla XXIV se recoge la relación de trabajadores que tenían test cutáneos positivos para alguno de los enzimas y la presencia o no de síntomas nasales o bronquiales.

Se utilizó para el estudio la prueba exacta de FISHER, y los resultado

quedan reflejados en las Tablas XXV a XXX.

Para todos los enzimas se encontró una asociación significativa entre síntomas nasales y test cutáneos positivos ( $p < 0.05$  a  $p < 0.01$ ) excepto para la Celulasa.

En el grupo que refería síntomas bronquiales la asociación de los mismos con la presencia de test cutáneos positivos fue altamente significativa para todos los enzimas ( $p < 0.01$  a  $p < 0.001$ ).

Estos hechos hablan de la gran especificidad de los test cutáneos como método diagnóstico del asma ocupacional en trabajadores expuestos y sintomáticos, especialmente en caso de que el agente etiológico este constituido por sustancias de alto peso molecular, hecho ya señalado en la literatura (41) (56) (72) (73), y que en nuestro estudio fue confirmado posteriormente con los estudios "in vitro" y los test de provocación bronquial.

Los mismos test cutáneos realizados en los grupos controles fueron totalmente negativos.

En 6 trabajadores, sin clínica respiratoria, existían igualmente test cutáneos positivos con alguno de los enzimas. Este hecho (¿alergia latente?) acontece con frecuencia con otros alérgenos.

### 3. TEST "IN VITRO"

#### A) IgE ESPECIFICA

##### a) IgE ESPECIFICA-TEST CUTANEOS

La Tabla XI refleja los valores de la IgE específica para cada enzima tanto en los trabajadores sensibilizados como en el grupo de trabajadores con test cutáneos negativos. Al comparar ambos grupos con el fin de encontrar diferencias significativas entre ambos, se utilizó la prueba de MANM-WHIT NEY, demostrándose que existían

diferencias significativas entre ambos grupos para la Alfa Amilasa (F) y Papaína ( $p < 0.0001$ ) con Lipasa fue casi significativa ( $p < 0.1$ ) y, por la escasez de la muestra no pudo ser procesada la Celulasa. En el caso de la Bromelina, y dada la reactividad cruzada existente con la Papaína, también se encontró diferencias significativas ( $p < 0.01$ ).

Si analizáramos la relación inversa, es decir, cual era el comportamiento de la IgE específica en aquellos trabajadores que tenían test cutáneos positivos frente a un determinado enzima, y si ambos parámetros se encontraban asociados o no, utilizamos la prueba exacta de FISHER y la prueba del  $\chi^2$ , encontrando los resultados que quedan reflejados en las Tablas XXXI a XXXIV. Se encontraron diferencias significativas para todos los enzimas, excepto para la Alfa Amilasa procedente de páncreas de cerdo.

La especificidad de los test cutáneos y la demostración de IgE específica en los trabajadores sensibilizados a enzimas ha quedado demostrado fehacientemente en trabajos previos.

Galleguillos demostró (76) que la Bromelina inducía asma ocupacional por mecanismo inmunológico, IgE dependiente, confirmado por la presencia de test cutáneos positivos e IgE específica.

Baur y nuestro grupo (77) (78) hemos demostrado igualmente la asociación existente entre test cutáneos positivos e IgE específica en trabajadores expuestos y sensibilizados a Papaína, con clínica de asma bronquial. Esta asociación se ha puesto de manifiesto igualmente con otros enzimas, proteolíticos y no proteolíticos, como Alfa Amilasa (80) (81), Tripsina (83), Pepsina (82) Y Celulasa (79).

En nuestro trabajo la especificidad de los test cutáneos y su relación con la existencia de clínica respiratoria en relación con su medio laboral y la existencia de IgE específica, queda perfectamente demostrado.

#### b) IgE ESPECIFICA-SINTOMATOLOGICA CLINICA

Hemos visto anteriormente la asociación existente y el grado de significación entre IgE específica y test cutáneos positivos, así como la asociación entre test cutáneos positivos y existencia de sintomatología clínica (Tablas XXV a XXX).

Cuando Intentamos comprobar la existencia de asociación significativa estadísticamente entre IgE específica y sintomatología clínica, solamente se encontró dicha asociación en el caso de la Papaína. La razón de esta aparente paradoja radica en que al considerar a cualquier trabajador con sintomatología respiratoria y valorar la existencia de IgE específica para un enzima determinado, puede ocurrir que la clínica referida no esté en relación con dicho enzima sino que sea debida a otro de los enzimas a los que está sensibilizado

En nuestra opinión esta puede ser la razón de esta aparente disociación. Si consideramos que existen 47 trabajadores con síntomas nasales de los cuales 24 presentan sintomatología bronquial y de ellos en el caso de la Celulasa sólo 4 están sensibilizados, al valorar la IgE Celulasa-Sintomatología clínica, estamos valorando pacientes cuya sintomatología nada tiene que ver con la existencia de IgE para dicho enzima.

## B) IgG ESPECIFICA

### a) IgG ESPECIFICA-TEST CUTANEOS

En las Tablas XII y XIII se reflejan los valores de la tasa de IgG específica en los trabajadores con test cutáneos positivos y negativos, no encontrándose diferencias significativas en ambos grupos excepto en el caso de la Lipasa ( $p < 0.01$ ).

Cuando intentamos buscar una asociación significativa entre aquellos trabajadores que presentan test cutáneos positivos y existencia de IgG específica solamente existía para la Papaína con  $p < 0.01$  (Tabla XXXVI).

No se conoce bien que papel juega la presencia de IgG específica en los



trabajadores con test cutáneos positivos o en los casos que, como hemos comentado, tenían provocación bronquial positiva con respuesta dual. Este hecho comprobado por diversos autores (69) (70) (162) (163) sería sugestivo de que un mecanismo tipo III pudiera estar implicado en algunos casos, si bien esta hipótesis no ha sido confirmada.

En una observación de nuestro grupo (datos no publicados), al estudiar la población de trabajadores expuestos y sensibilizados a polvo de diversas maderas comprobamos que, en algunos de ellos, a pesar de tener IgE específica y test cutáneos positivos, no existía sintomatología clínica, y esto ocurría en aquellos que tenían IgG específica, mientras que los trabajadores sintomáticos no habían desarrollado IgG específica. Este hecho de gran importancia, y no comprobado en nuestro estudio, podía interpretarse en el sentido de que la presencia de IgG específica en los trabajadores sensibilizados y asintomáticos desempeñaría un papel protector en estos trabajadores (¿Inmunoterapia espontánea?).

#### b) IgG ESPECIFICA-GRADO DE EXPOSICION

Al estudiar si el grado de exposición condicionaba la existencia de IgG específica, solamente se pudo comprobar una asociación estadísticamente significativa para la Alfa Amilasa (F) con  $p < 0.05$  y casi significativa para la Alfa Amilasa (C) con  $p < 0.1$ , pero no con el resto de los enzimas.

Aunque estas observaciones no están recogidas en la literatura, era sugerente la hipótesis de que la exposición podría condicionar la presencia de IgG específica. Nuestra observación mencionada anteriormente, en trabajadores sensibles a polvo de madera, en cierto modo, apunta esta posibilidad aunque otros trabajadores asintomáticos y expuestos no presentaban IgG específica.

### 4. PROVOCACIONES INHALATIVAS

Los test de provocación, inhalativas bronquial o nasal, constituirían el

punto final del diagnóstico de Rinitis-Asma Ocupacional, siempre que su realización sea correcta.

Ya hemos comentado anteriormente los resultados obtenidos en cada uno de los enzimas así como los tipos de respuesta bronquial obtenidos y su modificación con el pretratamiento con C.G.D.S.

La especificidad de estos resultados vendría dada por su correlación con el resultado de los test cutáneos o presencia de IgE específica y con la existencia de sintomatología clínica.

El escaso número de test de provocación realizados era uno de los inconvenientes a tener en cuenta.

#### A) PROVOCACIONES INHALATIVAS-TEST CUTANEOS

En las Tablas XXXVII a XL se recogen los resultados obtenidos en las provocaciones inhalativas con los distintos enzimas. Dada la escasez del total de test realizados con cada enzima no se pudo establecer una correlación estadísticamente significativa entre ambos parámetros, aunque sí existe evidencia clínica de que los test de provocación inhalativa positivos se asocian a la existencia de test cutáneos positivos.

Sin embargo, cuando comparamos los resultados de los test de provocación bronquial en el grupo de trabajadores con test cutáneos positivos con los resultados obtenidos en el grupo control (pacientes asmáticos atópicos no expuestos) (Tablas XLI, I, II, III), si encontramos una asociación significativa para Celulasa, Bromelina y Alfa Amilasa (F) con  $p < 0.01$ , no pudiéndose procesar la muestra para la Lipasa ni para la Papaina.

Estos datos son concordantes con los existentes en la literatura, donde queda claramente demostrada la correlación existente entre ambos test (70) (72) (73) (74) (77) (79).

La especificidad de los test de provocación inhalativa viene avalada, en nuestro estudio por la negatividad de los mismos, realizados a pacientes asmáticos no expuestos, con la máxima concentración (0.50 mg. del enzima correspondiente).

### B) PROVOCACION INHALATIVA-CLINICA RESPIRATORIA

En la Tabla XLVI se recoge la asociación de todos los parámetros.

En todos los trabajadores que tenían clínica respiratoria a los que se les realizó provocaciones inhalativas, nasales o bronquiales, el resultado con alguno de los enzimas testados fue positivo excepto en el paciente 27, que teniendo clínica respiratoria y test cutáneos positivos para Celulasa, Lipasa, Alfa Amilasa, Papaína y Bromelina, se le realizó provocación inhalativa bronquial con Alfa Amilasa y bronquial y nasal con Papaína, siendo el resultado negativo. Con el resto de los enzimas no se realizó provocación inhalativa.

El comportamiento en la provocación bronquial no fue semejante en todos los enzimas.

En el caso de la Celulasa, todos los trabajadores que tenían test de provocación bronquial positiva presentaban clínica respiratoria y lo mismo ocurría en el caso de la Lipasa.

En los trabajadores sensibles a Alfa Amilasa, 20 referían clínica respiratoria, a 15 de los cuales se les realizó test de provocación inhalativo que fue positivo en 9 (60%).

Por tanto en 6 trabajadores sensibles a Alfa Amilasa y con test cutáneos positivos, el test de provocación inhalativo fue negativo.

En el trabajo previo de Flindt (80) no realizó provocación inhalativa con este enzima en los trabajadores expuestos y sensibilizados por lo que no podemos

establecer comparación con el porcentaje de positivos del test en otros trabajos.

Respecto a la Papaína, todos los trabajadores a los que se realizó provocation inhalativa, referían clínica respiratoria, siendo positivo el test en el 93.7% de los casos (15 de 16 test inhalativos). Este porcentaje de positividad concuerda totalmente con trabajos previos, especialmente los de Baur (72,73) y que ha sido uno de los autores que más ha estudiado la sensibilización a Papaína, el cual obtiene test de provocation bronquial positivo en todos los trabajadores sensibilizados a este enzima y con clínica respiratoria, si bien el número de trabajadores testados es muy inferior al de nuestra muestra.

En el caso de la Bromelina, enzima al que no estaban expuestos, pero que tiene reactividad cruzada con la Papaína, la provocation inhalativa se realizó en 16 trabajadores sensibilizados y con clínica respiratoria, siendo el test positivo en 8 (61.5%). Este porcentaje es superior a los que aparecen en los trabajos previos (164). En este trabajo, Baur encuentra que de 6 trabajadores sensibles a Papaína en 5 se demuestra sensibilización a Bromelina, tanto por test cutáneos como por Rast, pero solo en 2 de ellos el test de provocation bronquial fue positivo, en los otros 3 trabajadores sensibilizados los test de provocation bronquial fueron negativos.

### C) PROVOCACIONES INHALATIVAS-IgE ESPECIFICA

Como se comentó anteriormente en el Capítulo de Resultados, no se pudieron establecer correlaciones, estadísticamente significativas, entre resultados de los test de provocation inhalativas y niveles de IgE específica. La escasez de la muestra del número de test inhalativos realizados con cada enzima fue la razón fundamental.

Sin embargo, la impresión clínica, ya comentada, es muy sugestiva de que los test de provocation positivos se asocian a cifras de IgE específica más elevadas que las que se encuentran en aquellos trabajadores con test de provocation negativos.

Por otra parte, el hecho de que, en algunos casos, el test de provocation

bronquial o nasal fuera positivo en trabajadores sintomáticos y con test cutáneos positivos pero con cifras de IgE específica menores de la considerada como positiva (0.150 O.D.), nos hace pensar que tal vez el dintel de positividad habría que situarlo en cifras más inferiores, salvo en el caso de la Alfa Amilasa (F).

También merece ser señalado el hecho de que exista asociación significativa estadísticamente entre test cutáneo-clínica respiratoria, test cutáneo-IgE específica y test cutáneo-test de provocación inhalativa.

**CAPITULO V****RESUMEN**

## RESUMEN

Los enzimas proteolíticos y no proteolíticos, constituyen una de las causas mas importantes de asma ocupacional alérgico, en las personas expuestas.

Su uso industrial es muy amplio y las vías de exposición diversas. Sin embargo la industria farmacéutica constituye, sin duda, la fuente más importante de exposición a estos productos, utilizados especialmente como fármacos de aplicación en patología digestiva.

En la literatura existente, algunos de estos enzimas, especialmente la Papaína y Bromelina, enzimas proteolíticos derivados de la papaya y de la piña, han sido reconocidos como agentes etiológicos de asma ocupacional alérgica, y se ha señalado el alto poder sensibilizante de los mismos.

Escasas descripciones hacen referencia a que la Alfa Amilasa, enzima de origen micótico (*Aspergillus Orizae*) sea agente etiológico de esta patología y no existen practicamente referencias bibliográficas de que la Lipasa (procedente de páncreas de cerdo) o la Celulasa, enzima procedente de varios hongos como el *Aspergillus niger* o el *Trichoderma viride*, puedan ser causa de asma bronquial ocupacional en las personas expuestas.

De todos ellos, sin duda la Papaína y la Bromelina son las más empleadas y, tal vez, la mayor frecuencia de exposición, sea la razón que justifique la mayor prevalencia de asma ocupacional por estas sustancias. Por el contrario la Alfa Amilasa, la Lipasa y la Celulasa, de uso menos amplio actualmente, son menos reconocidos como productores de asma ocupacional.

A todos los enzimas mencionados, excepto a la Bromelina, estaban expuestos un grupos de trabajadores de la industria farmacéutica, y que constituyen el material de esta tesis. De los 83 trabajadores encuestados, 72 eran mujeres y 11 varones,

con edades comprendidas entre los 19 y 63 años, el 56,6% refería síntomas respiratorios de vías altas que relacionaban con su medio laboral y la mitad de ellos además referían sintomatología respiratoria de vías bajas sugestiva de asma bronquial.

Existía, por tanto, una población importante (30%) del total de trabajadores encuestados, con clínica de asma bronquial, que relacionaban con su medio laboral, y que hacía pensar que los enzimas a los que estaban expuestos podían ser los agentes etiológicos del mismo.

El demostrar la posible interrelación, enzimas-asma bronquial, y los mecanismos etiopatogénicos de la misma, eran los objetivos mas importantes del trabajo.

Para ello se siguieron los siguientes pasos:

1) Demostrar la existencia de sensibilización a los enzimas a los que estaban expuestos y a otros relacionados, (Bromelina, Tripsina y Alfa Amilasa de páncreas de cerdo) mediante la realización de test cutáneos y test "in vitro" que demostraran la presencia de IgE o IgG específica frente a los mismos.

2) Realización de test de provocación inhalativa, nasal o bronquial, que demostrarán que los enzimas eran los responsables del cuadro clínico presentado por los trabajadores.

Para la realización de los test cutáneos, test "in vitro" y test de provocación fue preciso adecuar los enzimas, utilizados originalmente en la industria farmacéutica en forma de polvo, de modo que pudieran ser usados en los test diagnósticos sin que indujeran respuestas inespecíficas.

El uso de controles atópicos y no atópicos sirvieron de fieles testigos de su especificidad.

Para el uso de la provocación inhalativa nasal, los distintos enzimas se



utilizaron en solución acuosa al igual que en los test cutáneos, mientras que para el test de provocación bronquial se utilizaron en forma de polvo mezclado con lactosa que se inhalaba mediante el uso de un turboinhalador.

En 36 trabajadores se confirmó la existencia de test cutáneos positivos a alguno de los enzimas, lo que representa que el 43.3% del total de los trabajadores testados estaban sensibilizados a los mismos. De todos los enzimas empleados la Papaína y Alfa Amilasa (F) eran lo que producían mayor número de sensibilizaciones, seguidos de la Lipasa y la Celulasa. Se demostró igualmente sensibilización a enzimas a los que teóricamente no estaban expuestos, como la Bromelina, Tripsina y Alfa Amilasa (C).

Esta sensibilización cutánea fue confirmada mediante la determinación de IgE específica, significativamente más elevada en aquellos trabajadores que presentaban test cutáneos positivos, a diferencia de lo que ocurría en el grupo control y en los trabajadores con test cutáneos negativos.

La realización de test de provocación inhalativa tenían por finalidad comprobar que la exposición a los enzimas a los que estaban sensibilizados desencadenaban el cuadro clínico que presentaba el enfermo. La especificidad del método empleado se confirmó mediante la realización de los mismos test a controles asmáticos no expuestos.

En definitiva, podemos afirmar, por el estudio efectuado, que lo enzimas proteolíticos o no proteolíticos, son capaces de producir asma ocupacional por mecanismo alérgico, en un número elevado de trabajadores expuestos, como se demostró que los test inmunológicos "in vivo" e "in vitro", y por los test de provocación bronquial.

**CAPITULO VI****CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en este trabajo y analizado anteriormente, se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- 1) Los enzimas estudiados, proteolíticos o no proteolíticos, como la Papaína, Alfa Amilasa (F), Celulasa, Lipasa, son importantes agentes etiológicos de asma ocupacional en personas expuestas.
- 2) La prevalencia de sintomatología respiratoria en las personas expuestas a nivel industrial, es muy elevada, alcanzando en nuestro grupo al 56.6% de los trabajadores que se sometieron al estudio, de los cuales el 51% referían clínica de asma ocupacional, lo que representa un 30% del total de la muestra.
- 3) La existencia de antecedentes atópicos personales favorecen la aparición de esta patología. El 44.6% de los trabajadores que referían síntomas nasales tenían antecedentes personales alérgicos y el 54.4% de los que presentaban asma bronquial tenían igualmente antecedentes personales alérgicos.
- 4) El grado de exposición constituye otro factor de riesgo de vital importancia. La mayor parte de los trabajadores sintomáticos estaban encuadrados en los grupos de exposición alta y media.
- 5) Los estudios realizados "in vivo" e "in vitro", demostraron que la sintomatología clínica inducida por estos enzimas, se produce por un mecanismo de hipersensibilidad IgE dependiente.
- 6) El 43.3% de los trabajadores expuestos presentaban test cutáneos positivos para alguno de los enzimas. Esta sensibilización era más numerosa para la Papaína y Alfa Amilasa que con la Lipasa o Celulasa.
- 7) Algunos de los trabajadores presentaban igualmente test cutáneos

positivos con otros enzimas a los que no estaban expuestos, como la Bromelina, Tripsina y Alfa Amilasa, los dos últimos de origen animal (páncreas de cerdo).

8) Esta sensibilización a enzimas no utilizados en su trabajo, se puede explicar por la existencia de reactividad cruzada, hecho demostrado entre la Papaína y la Bromelina, ambos enzimas de origen vegetal.

9) El test de transferencia pasiva (P.K.) fue positivo en algunos trabajadores a los que se le realizó el test, negativizándose al calentar el suero a 56 grados centígrados. Este hecho confirma que la sensibilización se debe a la inmunoglobulina IgE.

10) Existe una correlación significativa estadísticamente entre existencia de antecedentes alérgicos y test cutáneos positivos con los enzimas a los que estaban expuestos, aunque variable cuantitativamente entre unos y otros enzimas.

11) Los test cutáneos constituyen un método diagnóstico sencillo y eficaz. La correlación existente entre test cutáneos positivos y clínica respiratoria es estadísticamente significativa con  $p < 0.01$  a  $p < 0.05$  para los síntomas nasales, y  $p < 0.01$  a  $p < 0.001$  para los síntomas bronquiales.

12) La Metodología empleada para determinar IgE específica es sensible y específica. Existe una clara correlación entre cifras de IgE específica y test cutáneos para los distintos enzimas con  $p < 0.01$  a  $p < 0.001$ .

13) Aunque varios trabajadores presentaban cifras de IgG específica elevadas para algunos de los enzimas no se puede establecer asociación alguna con aquellos trabajadores que presentaban test cutáneos positivos. El papel que la IgG específica desempeña en estos trabajadores no es conocido.

14) Mediante la técnica de REIA inhibición se demostró la existencia de reactividad cruzada entre Papaína y Bromelina, así como entre Celulasa y el hongo productor (*Aspergillus Niger*).

15) Esta reactividad cruzada entre Celulasa y *Aspergillus Niger*, hecho no señalado en la literatura, excepto por nosotros, abre un camino muy interesante para estudiar el complejo problema de la alergia a hongos.

16) La provocación inhalativa, especialmente la bronquial, constituye el paradigma del diagnóstico de asma ocupacional.

17) La especificidad de nuestro método se demostró al comparar los resultados obtenidos en los trabajadores sintomáticos y con test cutáneos positivos con los obtenidos en el grupo control de asmáticos no expuestos y no sensibilizados. Ninguno de estos pacientes presentó test de provocación bronquial positivo.

18) Dada la correlación existente entre test cutáneos y sintomatología clínica, así como entre test cutáneos positivos y presencia de IgE específica, creemos que la provocación inhalativa bronquial puede constituir una prueba diagnóstica de menor utilización, dada su dificultad técnica y su potencial peligrosidad. Solo en los casos en los que se requiere filiar un agente etiológico desconocido o que exista discordancia entre clínica-test cutáneos-IgE específica, debería ser empleada.

19) En nuestros casos, el test de provocación bronquial permitió demostrar el papel etiológico de la Celulasa y la Lipasa en algunos trabajadores. Estos enzimas no estaban descritos como agentes etiológicos de asma ocupacional.

20) Los modelos de respuesta bronquial son de tipo inmediato o dual. Este tipo de respuesta dual se obtuvo únicamente con Papaína y Bromelina.

21) El C.G.D.S. modifica la respuesta inmediata y, cuando existe, también el componente tardío de la respuesta dual.

22) En algunos trabajadores con sintomatología clínica, no se demostró sensibilización cutánea a los enzimas testados. Esto tenía lugar especialmente en el grupo de trabajadores que solamente referían síntomas nasales. La especificidad de la

sintomatología bronquial era más evidente y solamente en 6 de los 24 trabajadores con clínica de Asma bronquial no existía test cutáneos positivos.

23) En algunos trabajadores la existencia de test cutáneos positivos para alguno de los enzimas no se acompañaba de sintomatología clínica. Este hecho (¿Alergia Latente?) ha sido reiteradamente señalados para alérgenos convencionales.

24) Como conclusión final podemos afirmar que los enzimas son capaces de producir asma ocupacional por mecanismo inmunológico IgE dependiente en las personas expuestas, especialmente en aquellas que presentan antecedentes personales alérgicos y/o estén sometidos a un grado medio-alto de exposición en su lugar de trabajo.

**CAPITULO VII****BIBLIOGRAFIA**

**BIBLIOGRAFIA.**

- 1.- BROOKS, S.M.: Occupational asthma. In *Asthma. Clinical Considerations and Therapeutic*. Ed. by E.B. Weis, M.S. Segal and M. Stein. 2.ed. Little Brown and Co. Boston, 461-493, 1985.
- 2.- NEWMAN TAYLOR, A.J.: Occupational asthma. *Thorax*, 35,241-245, 1980.
- 3.- Department of Health and Social Security Occupational Asthma. Report of the Industrial Injuries Advisory Council. London: Her Majesty's Stationery Office, 1981.
- 4.- DAVIES R.J., BLAYNEY, A.D. and PEPYS, J.: Occupational Asthma. In *Allergy. Principles and Practice*, Ed. by E. Middleton, Ch. E. Reed and E.F. Ellis. 2. ed. The Mosby Co. St. Louis, 1037-1065, 1983.
- 5.- RAMAZZINI, B.: *De Morbis Artificum Diatriba*, 1713 (Disease of Workers). Transcrito por Wright W.C. University of Chicago Press, 1940.
- 6.- PROUST, A.: *Traité d'Hygiène Publique et Privée*. Paris: Masson, 1877, pp. 171-174.
- 7.- KAY, J.P.: Trades producing phthisis. *New England Med. Surg. J.*: 1,137, 1831.
- 8.- KARESEK, S.R., KARASEK, M.: Preliminary report on the injurious effects of metal platinum, chromates, cyanides, hydrofluoric acid and of material used by silver miners. Re-



port of the Illinois State Commission on Occupational Disease, 97, 1911.

9.- HUNTER, D., MILTON, R. and PERRY, K.M.A.: Asthma caused by the complex salts of platinum.

British Journal of Industrial Medicine, 2,92-98, 1945.

10.- FIGLEY, B. and ELROD, R. M. : Endemic asthma due to castor bean dust.

J.A.M.A., 90,79, 1928.

11.- BEECHER, W.: Hyperesthetic rhinitis and asthma due to digestive ferments.

Illinois Medical Journal, 59,342, 1931.

12.- OSGOOD, H.: Atopic sensitivity to caroid (papain).

Journal of Allergy, 16,245, 1945.

13.- DOIG, A.T.: Other lung diseases due to dust.

Postgraduate Medical Journal, 25,639, 1949.

14.- JIMENEZ DIAZ, C. LAHOZ, C. and CANTO, G.: The allergens of mill dust. Asthma in millers farmers and other. Ann. Allergy, 5,519, 1947.

15.- SCHWARTZ, M.: Flour Allergy.

J. Allergy Clin Immunol., 18,341, 1947.

16.- FUCHS, S. and VALADE, P.: Etude clinique et experimentale sur quelques cas d'intoxication par le desmodur T (diisocyanate de Toluylene 1-2-4 et 1-2-6).

Archives des Maladies Professionnelles, 12,191, 1951.

17.- BROOK, S.M.: Bronchial Asthma of Occupational Origen.

in William N.R. Ed. *Environmental and Occupational Medicine*. Boston, Little Brown : 233-250, 1983.

- 18.- KOBAYASSHI, S.: Occupational asthma due to inhalation of pharmacological dust and other chemical agents with some reference to other occupational asthma in Japan. in *Allergology*, ed by Yamamura, Y. et al. *Excerpta Medica*. Amsterdam, : 124, 1974.
- 19.- ROBERTS, A.E.: Platinosis, a 5-year study of the effects of soluble platinum salts on employees in a platinum laboratory and refinery. *Arch. Ind. Hyg.*, 4: 549, 1951.
- 20.- BROOKS, S.M., Bronchial asthma of occupational origin. *Scand. J. Work Environ Health*, 3,53, 1977.
- 21.- DIEM, J.E. et al.: Five-year longitudinal study of workers employed in a new toluene diisocyanate manufacturing plant. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 126,420, 1982.
- 22.- AVERY, S.B., STETSON, D.M., PAN, P.M., MATHEWS, K.P.: Immunological investigation of individuals with toluene diisocyanate asthma. *Clin Exp. Immunol.*, 4,585, 1969.
- 23.- BAUR, X., FRUHMANN, G.: Specific IgE antibodies in patients with isocyanate asthma. *Chest*, 80 (suppl.), 73, 1981.
- 24.- ZEISS, C.R., PATTERSON, R., PRUZAUSKY, J.J., MILLER, M., ROSEMBERG, M. and LEVITZ, D.: Trilellic anhydride-induced airway syndrome: Clinical and immunologic studies. *J. Allergy Clin Immunol.*, 60,96, 1977.

- 25.- ZEISS, C.R., WOLKONSKY, P., PRUZANSKY, J.J. and PATTERSON, R.: Clinical and immunologic evaluation of trimellitic anhydride workers in multiple industrial settings.  
J. Allergy Clin Immunol., 70,15, 1982.
- 26.- GALLAGHER, J.S., WILCOX, T.G., BERNSTEIN, I.L. and BROOKS, S.M.: Rast screening for industrial sensitivity to phthalyl compound.  
J. Allergy Clin Immunol., 65,169 (abstract), 1980.
- 27.- FAWCETT, I.W., NEWMAN TAYLOR, A.J. and PEPYS.: Asthma due to inhaled chemical agents fumes from "Multicore" soldering flux and colophony resin.  
Clinical Allergy, 6,577, 1976.
- 28.- BURGE, P.S., EDGE, G., HAWKINS, R., WHITE, V. and NEWMAN TAYLOR, A.J.: Occupational asthma in a factory making flux-cored solder containing colophony.  
Thorax, 36,828, 1981.
- 29.- BURGE, P.S.: Occupational asthma due to soft soldering fluxes containing colophony (rosin, pine resin).  
Eur. J. Respir. Dis., 63, suppl. 123,65, 1982.
- 30.- COCKROFT, D.W. HOEPNER, V.H. and DOLOVICH, J.: Occupational asthma caused by cedar urea formaldehyde particle board.  
Chest, 82,49, 1982.
- 31.- SLOVAK, A.J.M.: Occupational asthma caused by plastic blowing agent, azodicarbonyl diamide.  
Thorax, 36,906, 1981.
- 32.- SILBERMAN, D.E., SORRELL, A.H.: Allergy in fur workers with special reference to pa-

raphenylene diamine.

J. Allergy, 30,11, 1959.

- 33.- DAVIES, R.J., HENDRICK, D.J., PAPYS, J.: Asthma due to inhaled chemical agents: ampicillim, benzympenicillim, 6-aminopenicillanic acid and related sustances.  
Clinical Allergy, 4,227, 1974.
- 34.- COUTTS, I.I., DALLY, M.B., NEWMAN-TAYLOR, A.J., PICKERING, C.A.C., and HORSFIELD, N.: Asthma in workers manufacturing cephalosporins.  
Br. Med. J., 283,950, 1981.
- 35.- LOSADA COSMES, E., HINOJOSA MACIAS, M., ALCOVER SANCHEZ, R., SANCHEZ CANO, M. SAINZ MARTIN, T. y ALVAREZ CUESTA, E.: Asma por alergia a penicilina ambiental. Allergol. et Immunopathol., supl. VII,288, 1980.
- 36.- DAVIES, R.J., PAPYS, J.: Asthma due to inhaled chemicals: the macrolide antibiotic spiramycin.  
Clin. Allergy, 5,99, 1975
- 37.- CHAN-YEUNG, M. and LAM, S.: Occupational Asthma.  
Am. Rev. Respir. Dis., 133,686, 1986.
- 38.- SOSMAN, A.J., SCHLUETER, D.P., FINK, J.N. and BARBORIAK, J.J.: Hypersensitivity to wood dust.  
N. Engl. J. Med., 281,977, 1969.
- 39.- GREENBERG, J.: Respiratory Symptoms following brief exposure to cedar of Lebanon (cedar libani) dust.

Clin Allergy, 2,219, 1982.

- 40.- MILLE,J. and GANDEVIA,B.: Occupational asthma and rhinitis due to western (canadian) red cedar (*Thuja Plicata*).  
Med. J. Aust.,2,741, 1969.
- 41.- HINOJOSA,M., MONEO, I.,DOMINGUEZ,J., DELGADO,E., LOSADA,E. and ALCOVER,R.: Asthma caused by African Maple (*Triplochiton sclerosylon*) wood dust.  
J. Allergy Clin Immunol.,77,782, 1984.
- 42.- HINOJOSA,M., LOSADA,E., MONEO,I., DOMINGUEZ,J., CARRILLO,T. and SANCHEZ CANO,M.: Occupational asthma caused by African Maple and Ramin:evidence of cross reactivity between these two wood.  
Clin Allergy.,16,145, 1986.
- 43.- CHAN-YEUNG,M., BARTON,G.M., MAC LEAN., GRZYBOWSKI,S.: Occupational asthma and rhinitis due to western red cedar (*Thuja plicata*).  
Am. Rev.Respir.Dis., 108,1094, 1973.
- 44.- CHAN-YEUNG,M.: Immunologic and nonimmunologic mechanisms in asthma due to western red cedar (*Thuja plicata*).  
J. Allergy Clin Immunol., 70,32, 1982.
- 45.- CHAN-YEUNG,M., VEDAL,S., DUS,J., MACLEAN,L., ENARSON,D. and TSE,K.: Symptoms pulmonary function and bronchial hyperreactivity en western red cedar compared to those in the office workers.  
Am. Rev.Respir.Dis., 130,1038, 1984.
- 46.- ISHIZAKI,T., SHIDA,T. MATSUMARA,Y., MYZUNO,K. and TOMARU,M.: Occu-

pational asthma from western red cedar dust (*Thuja plicata*) in furniture factory workers.  
J. Occ. Med., 15,580, 1973.

- 47.- BRIATICO-VANGOSA,G., CORDANI,A., CAROSSO,A., FALAGIANI,P., MARCHISIO,M., NAVA,C., ROMANO,C., TALAMO,,: Asma professionale da polvere di *Triplachiton Scleroxylon* (Obeche-Samba).  
Folia Allergol. Immunol. Clin., 30,465, 1983.
- 48.- HINOJOSA MACIAS,M., LOSADA COSMES,E., MARTINEZ GOMEZ,J., DOMINGUEZ JUNCAL,J., SUBIZA GARRIDO-LESTACHE,J. y MONEO GOIRI,I.: Asma ocupacional producida por inhalación de polvo de madera (Samba).  
I Congreso Nacional de Medicina del Trabajo. Libro de Comunicaciones, pp 12, Barcelona, Marzo 1985.
- 49.- CHAN-YEUNG,M., SCHULZER,M., MAC LEAN,L. DORKEN,E., GRZYBOWSKI,S. :  
Epidemiologic health survey of grain elevator workers in British Columbia.  
Am.Rev.Respir.Dis., 121,329, 1980.
- 50.- DO PICO,G.A., REDDAN,W., ANDERSON,S., FLHERTY,D., SMALLEG,E.: Acute effects of grain dust exposure during a work shift.  
Am rev.Respir.Dis., 128,399, 1983.
- 51.- HERSHEIMER,H.: The skin sensitivity to flour of bakers' apprentices.  
Acta Allergol., 28,42, 1973.
- 52.- THIEL,H., ULMER,WNT.: Baker's asthma: development and polibility of treatment.  
CHEST, 78 (supl.), 400, 1980.
- 53.- KARR,R.M.: Bronchoprovocation studies in coffe worker's asthma.

J. Allergy Clin Immunol., 64,650, 1979.

- 54.- DAVISON,A.G., BRITTON,M.G., FORRESTER,J.A., DAVIES,R.J., HUGHES,D.T.D.:  
Asthma in merchant seamen and labortory workers caused by allergy to castor oil beans:  
analysis of allergens.  
Clin Allergy, 13,553, 1983.
- 55.- KEMENY,D.M., FRANKLAND,A.W., FAHKRI,Z.I. and TRULL,A.K.: Allergy to castor  
bean in the Sudan, measurement of serum IgE and spacific IgE antiboides.  
Clin Allergy, 11,463, 1981.
- 56.- HINOJOSA,M., MONEO,I., CUEVAS,M., DIAZ MATEO,P., SUBIZA,J. and LO-  
SADA,E.: Occupational asthma caused by Voacanga Africana seed dust.  
J. Allergy Clin Immunol, 79,575, 1987.
- 57.- BUSSE,W.W., SCLOENWETTER,W.F.: Asthma from psyllium en laxative manufacture.  
Ann. Intern. Med., 83,361, 2975.
- 58.- MACHADO,L. and STALENHEIM,G.: Respiratory symptoms en Ispaghula. Allergic nur-  
ses after oral challenge with Ispaghula suspension.  
Allergy, 39,65, 1984.
- 59.- HINOJOSA,M., SUBIZA,J., MONEO,I., ARMENTIA,A., DIEZ-GOMEZ,M.G., LO-  
SADA,E.: Occupational asthma cause by Ispaghula (Plantago Ovala) used en bulk la-  
vatives manufacture.  
Bull Europ. Physiopath, Resp., 22, suppl,8: 126, 1986.
- 60.- BARBERO,A. y FLORES,R.: Enfermedad del cáñamo.

Rev. Clin. Español., 13,395, 1944.

61.- JIMENEZ DIAZ,C. y LAHOZ,C.: La cannabiosis (enfermedad de los trabajadores del cáñamo).

Rev. Cli. Español., 14,366, 1944.

62.- GONZALEZ RIVAS: II Conferencia Internacional sobre enfermedades respiratorias en trabajadores textiles (Bisinosis).Alicante, 1968.

Actas Mutua Catalana de Accidentes. Barcelona.

63.- EL-BATAWI: "Byssinosis in cotton industry of Egypt".

Br. J. Ind. Med., 19,126, 1962.

64.- FLINDT,M.L.H.: Pulmonary disease due to inhalation of derivates of bacillus subtilis containing proteolytic enzyme.

Lancet,1,1177, 1969.

65.- PEPYS,J., HARGREAVE,F.E., LONGBOTON,J.L. and FAUX,J. : Allergic reactions of the lungs to enzyme of bacillus subtilis.

Lancet, 1,1181, 1969.

66.- BELIN,L. et al.: Enzyme sensitization in consumers of enzyme-containing washing powder.

Lancet, 2,1153, 1970.

67.- MITCHELL,C.A., GANDABIA,B.: Respiratory symptoms and skin sensitibility in workers exposed to proteolytic enzyme in detergent industry.

Am. Rev. Respir.l Dis., 104,1, 1871.



- 68.- FRANZ, T., MC MURRAIN, K.D., BROOKS, S., BERNSTEIN, I.L.: Clinical immunologic and physiologic observations in factory workers exposed to *B. subtilis* enzyme dust. *J. Allergy*, 42,170, 1971.
- 69.- TARLO, S.M., SHAIKH, W., BELL, B., CUFF, M., DAVIES, G., DOLOVICH, J. and HARGREAVE, F.E.: Papain-induced allergic reactions. *Clin Allergy*, 8,207, 1978.
- 70.- LOSADA COSMES, E., HINOJOSA MACIAS, M., MONEO GOIRI, I., DOMINGUEZ JUNCAL, J., CUEVAS AGUSTIN, M., ARMENTIA MEDINA, A. y CARRILLO DIEZ, T.: Asma bronquial por inhalación de papaina: Hallazgos clínicos e inmunológicos y modelos de respuesta bronquial. *Rev. Español. Alergol. Inmunol. Clin.*: 1,29, 1986.
- 71.- NOVET, H.S., MARCHIOLI, L.E., SOKOL, W.N. and WELLS, I.D.: Papain-induced asthma. Physiological and Immunological features. *J. Allergy Clin Immunol.*, 63,98, 1979.
- 72.- BAUR, X., FRUHMANN, G.: Papain-induced asthma; diagnosis by skin test, Rast and bronchial provocation test. *Clinical Allergy*, 9,75, 1979.
- 73.- BAUR, X.: Clinical symptoms and results of skin test, Rast and bronchial provocation test in thirty-three papain workers: Evidence for strong immunogenic potency and clinically relevant "proteolytic effects of airborne papain". *Clinical Allergy*, 12,917, 1982.
- 74.- NOVEY, H.S., KEENAN, W.J., FAIESHTER, R.D., WELLS, I.D., WILSON, A.F. and

CULVER,B.D.: Pulmonary disease in workers exposed to papain: clinico-physiological and immunological studies.

Clin Allergy., 10,721, 1980.

- 75.- LOSADA,E., HINOJOSA,M., MONEO,I., CAYON,J., ALVAREZ CUESTA,E. y SANCHEZ CANO,M.: Asma por inhalación de polvo de papaína.  
XI Congreso Mundial de Asmología, Interasma, Mexico, 1984 Libro de Abstracts, pp. 93.
- 76.- GALLEGUILLOS,F. and RODRIGUEZ,J.C.: Asthma caused by bromelin inhalation.  
Clin Allergy, 8,21, 1978.
- 77.- LOSADA,E., HINOJOSA,M., DOMINGUEZ,J., MONEO,I., CARRILLO,T. and SANCHEZ CANO,M.: Clinical and immunological finding in occupational allergy due to proteolytic enzymes papain and bromelide.  
Annual Meeting of the European Academy of Allergology and Clinical immunology. Estocolmo,1985. Abstracts pp 159.
- 78.- BAUR,X.: Studies of the specificity of human IgE-antibodies to the plant proteases papain and bromelain.  
Clin Allergy, 9,451, 1979.
- 79.- LOSADA,E., HINOJOSA,M., MONEO,I., DOMINGUEZ,J., DIEZ GOMEZ,M.L., and IBAÑEZ,M.D.: Occupational asthma caused by cellulase.  
J. Allergy Clin Immunol., 77,635, 1986.
- 80.- FLINDT,M.L.H.: Allergy to alpha-amylase and papain.  
Lancet, 1,1407, 1979.
- 81.- DIEZ GOMEZ,M.L., CARRILLO,T., DOMINGUEZ,J., CUEVAS,M., HINOJOSA,M.,

- ARMENTIA,A., LOSADA,E.: Occupational asthma due to alpha-amylase.  
Bull. Europ. Physiopath. Resp., 22, suppl. 8,117, 1986.
- 82.- CARTIER,A., MALO,J.L., PINEAU.L., DOLOVICH,J.: Occupational asthma due to pepsin. J. Allergy Clin. Immunol., 73,574-577, 1984.
- 83.- COLTEN,H.R., POLAKOFF,P.L., WEINSTEIN,S.F., STRIEDER,D.J.: Immediate hypersensitivity to hog trypsin resulting from industrial exposure.  
N. Engl.J.Med.: 292,1050-1053, 1975.
- 84.- PAUWELS,R., DEVOS,M., CALLEN,L., VANDER STRAESSEN,M. Respiratory hazards from proteolytic enzymes.  
Lancet, 1,1669, 1978.
- 85.- HARTMANN,A.L., WALTER,H., WUTHERICH,B.: Allergisches berufsasthma auf Pektinase, ein pektolytisches Enzym.  
Schweiz Med Wschr, 113,265, 1983.
- 86.- DAVIES,G.E., MCARDLE,L.A.: Allergy to laboratory animals: a survey by questionnaire.  
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 64,302-307, 1981.
- 87.- COCKCROFT,A., EDWARDS,J., MCCASTHY,P., ANDERSON,N.: Allergy in laboratory animal workers.  
Lancet, 1,827-830, 1981.
- 88.- SCHUMACHER,M.J., TAIT,B.D. and HOLMES,M.C.: Allergy to urine antigens in a biological research institute.

J. Allergy, Clin Immunol., 68,310-318, 1981.

- 89.- BURGE, P.S., EDGE,G., O'BRIEN,M. HARRIS,M.G., HAWKINS,R., PEPYS,J.: Occupational asthma in a research centre breeding locust.  
Clin Allergy, 10,355-363, 1980.
- 90.- WIESSMANN,N.J. and BAUR,X.: Occupational lung disease following long-term inhalation of pancreatic extracts.  
Eur. J.Respir. Dis., 66,13-20, 1985.
- 91.- BERNSTEIN,D.I., GALLAGHER,J.S. and BERNSTEIN,I.L.: Mealworm asthma: clinical and immunologic studies.  
J. Allergy Clin Immunol., 72,475-480, 1983.
- 92.- NEWMAN TAYLOR, A., LONGBOTTON, J.L., and PEPYS,J.: Respiratory allergy to urine proteins of rats and mice.  
Lancet, 2,847-849, 1977.
- 93.- OHMAN,J.L., LOWEL,F.C., BLOCH,F.J.: Allergens of mammalian origin.  
II:Characterization of allergens extracted from rats, maus, guinea pig, rabbite pelts.  
J. Allergy Clin Immunol.' 55,16-24, 1975.
- 94.- LONGBOTTON,J.L.: Occupational Allergy due to animals Allergens. Clinics Immunol. Allergy, 4,19-36, 1984.
- 95.- NEWMAN TAYLOR,A.J., MYERS,J.R., LONGBOTTON,J.L. et al.: Immunologocal differences between asthma and other allergic reactions in laboratory animal workers.  
Thorax, 36,299 (Abstract), 1981.

- 96.- **LONGBOTTON,J.L.:** Characterization of allergens from the urines of experimental animals.  
Proceedings of the XI th International Congress of Allergology and Clinical Immunology.  
Ed by Kerr J.W., pp 525-529, Basingstoke: MacMillan.
- 97.- **PEPYS,J. and DAVIES,R.J.:** Occupational asthma.  
in Middleton,E., Reed, C.E. and Ellis,E.F. eds. Allergy: Principles and Practice, Mosby Co,  
St Louis, 818-842,1978.
- 98.- **VALDIVIESO,R., LOSADA,E., DIEZ GOMEZ,M.L., ARMENTIA,A., CUEVAS,M.,  
MONEO,I., HINOJOSA,M.:** Alergia ocupacional causada por alfa amilasa.  
Rev. Esp. Alergol. Inmunol. Clin., 3,96, 1986.
- 99.- **EVANS,E. and NICHOLS,P.J.:** Histamina release by western red cedar (*Thuja plicata*)  
from lung tissue in vitro.  
British Journal of Ind. Med., 31,28-30, 1974.
- 100.- **CHAN-YEUNG,M., GICLAS,P., HENSON,P.:** Activation of the complement by plicatio  
acid: the chemical compound responsible for asthma due to western red cedar (*Thuja pli-  
cata*).  
J. Allergy Clin Immunol., 65,333-337, 1980.
- 101.- **TSE,K.S., CHAN,H., CHAN-YEUNG,M.:** Specific IgE antibodies in workers with oc-  
cupational asthma due to western red cedar.  
Clin Allergy, 12,249-258, 1982.
- 102.- **HENDRICK,D.J., DAVIES,R.J., PEPYS,J.:** Baker's asthma.  
Clin Allergy, 6, 241-250, 1976

- 103.- BJORKSTEN,F., BACKMAN,A., JARVINEN,K. et al.: IgE especific to wheat and rey flour protein.  
Clin Allergy, 7, 473-483, 1977.
- 104.- SUBIZA,J., HINOJOSA,M., MONEO,I., CUEVAS,M. ARMENTIA,A., POLA,J., VALDIVIESO,R. y LOSADA,E.: Rinitis y asma ocupacional enducido por inhalación de harina de cereales: Hallazgos clínicos e inmunológicos.  
Rev. Esp. Alergol. Inmunol. Clin., 2,n.1, 30-36, 1987,
- 105.- BLOCK,G., TSE,K.S., KIJEK,K., CHAN-YEUNG,M.: Baker's asthma: studies of cross-antigenicity between different cereals grains.  
Clin Allergy,14, 177-185, 1984.
- 106.- PEPYS,J.: Occupational Allergy due to Platinum Complex Salts.  
Clinics in immunology and Allergy 4, 131-157, 1984.
- 107.- FREEDMAN,S.O. and KRUPEY,J.: Respiratory allergy caused by platinum salts.  
Journal of Allergy, 42, 233-237, 1968.
- 108.- CROMWELL,O., PEPYS,J., PARISH,W.E. and HUGHES,E.G.: Specific IgE antibodies to platinum salts in sensitized workers.  
Clin. Allergy., 9,109, 1979.
- 109.- MALO,J.L., CARTIER,A., POEPMER,M. and NIEBOER,E.: Ocupational asthma caused by nickel sulphate.  
J. Allergy Clin Immunol., 69, 56-60, 1982.
- 110.- KAROL,M.H., JOSET,H.H., and ALARIE,Y.C.: TolyI specific IgE antibodies in workers

with hypersensitivity to toluene diisocyanate.

Am. Ind. Hyg. Assoc. J.: 39, 454-458, 1978.

- 111.- BUCHER,B.T., O'NEIL,C.E., REED,M.A. and SALVAGGIO,J.E.: Radioallergosorbent testing of toluene diisocyanate-reactive individuals using p-tolyl isocyanate antigen.  
J. Allergy Clin Immunol., 66, 213, 1980.
- 112.- BAUR,X.: Immunologic cross reactivity between different albumin-bound isocyanate.  
J. Allergy Clin Immunol., 71,197, 1983.
- 113.- BUCHER,B.T., SALVAGGIO,J.E., WEILL,H. and ZISKIND,M.M.: Toluene-diisocyanate TDI pulmonary disease: immunologic and inhalation challenge studies.  
J. Allergy Clin Immunol., 58, 89-100, 1976.
- 114.- MACCIA,C.A., BERNSTEIN,I.L., EMMETT.E.A., BROOKS,S.M.: In vitro demonstration of specific IgE in phthalic anhydride hypersensitivity.  
Am. Rev. Respir. Dis., 113, 701-704, 1976.
- 115.- BURGE,P.S.: Occupational Asthma, Rhinitis and Alveolitis due to Colophony.  
Clinics in Immunology and Allergy, 4, 55-81, 1984.
- 116.- WEINER,A.: Bronchial asthma due to organic phosphate insecticide.  
Ann Allergy, 19, 397-401, 1961.
- 117.- DAVIES,R.J., BUCHER,B.T., O'NEIL,C.E., SALVAGGIO,J.E.: The in vitro effect of toluene diisocyanate on lymphocyte cyclic adenosine monophosphate production by isoproterenol, prostaglandin and histamine. A possible mode of action.  
J. Allergy Clin Immunol., 60, 223-229, 1977.

- 118.- BERNSTEIN,I.L.: Isocyanate-induced pulmonary disease: a current perspective.  
J. Allergy Clin Immunol., 70 (supl:24-31), 1982.
- 119.- CHAN-YEUNG,M., GIGLAS,P., HENSON,P.: Activation of the complement by plicatic acid: The chemical compound responsible for asthma due to western red cedar (*Thuja plicata*).  
J. Allergy Clin Immunol., 65, 333-337, 1980.
- 120.- DOUGLAS,J.S., ZUSKIN,E. and BOHUYS,A.; Relationship between in vivo bronchospasm induced by textile dust extracts and in vitro histamine release from pig lung.  
Am. Rev. Respir. Dis., 109, 712, 1974.
- 121.- RYLANDER,R.K., IMBUS,H.R. and SUH,M.W.: Bacterial contamination of cotton as an indicator of respiratory effects among cardroom workers.  
Br. J. Ind. Med., 36, 299-304, 1979.
- 122.- CASTELLAN,R.M., OLENCHOCK,S.A., HANKINSON,J.L. et al: Acute bronchoconstriction induced by cotton dust: dose-related response to endotoxin and other dust factors.  
Ann. Int. Med., 101,157-163, 1984.
- 123.- WILSON,M.R., SEKUL,A., ORY,R., SALVAGGIO,J.E., LEHER,S.B.: Activation of the alternative complement pathway by extracts of cotton dust.  
Clin Allergy, 10, 303-308, 1980.
- 124.- BOUSHEY,H.A., HOLTZMAN,M.J., SHELLER,J.K., NADEL,J.A.A: Bronchial hyperreactivity.  
Am. Rev. Respir. Dis., 121, 389-414, 1980.



- 125.- COCKCROFT,D.W.: Acquired persistent increase in non-specific bronchial reactivity associated with isocyanate exposure.  
Ann Allergy, 48, 93-95, 1982.
- 126.- GANDEVIA,G.: Occupational asthma.  
I. Med. J. Aust., 2,332-335, 1970.
- 127.- BROOKS,S.M., LOCKEY,J.: Reactive airways dysfunction syndrome (RADS). A newly defined occupational disease (Abstract).  
Am. Rev. Respir. Dis., 123, (suppl.:A 133), 1981.
- 128.- RUFFIN,R.E., COCKCROFT,D.W. and HARGREAVE,F.E.: A comparison of the protective effect of fenoterol and Sch 1000 at allergen-induced asthma.  
J. Allergy Clin Immunol., 61, 42-47, 1978.
- 129.- PEPYS,J., CHAN-YEUNG,M., HARGREAVE,F.E. and MCCARTHY,D.S.: Inhibitory effect of disodium cromoglycate on allergen-inhalation test.  
Lancet, 2, 134-137, 1968.
- 130.- DOLOVICH,J., HARGREAVE,F.E., CHALMERS,R., SHIER,D.J., GAULDINE,J. and BIENENSTOCK,J.: Late cutaneous allergic responses in isolated IgE-dependent reactions.  
J. Allergy Clin Immunol., 52, 38-46, 1973.
- 131.- BOOIJ-NOORD,H., ORIE,N.G.M. and VRIES,K.: Immediate and late bronchial obstructive effects of disodium cromoglycate and prednisolone.  
J. Allergy Clin Immunol., 48, 344-354, 1971.
- 132.- HINOJOSA MACIAS,M. y LOSADA COSMES,E.: Asma ocupacional. Manejo diag-

nostico y pruebas de provocación bronquial.

en Tratado de Alergología e Inmunología Clínica, tomo III, pp 409-418, Ed. Luzan S.A.  
Madrid, 1966.

- 133.- NEWMAN TAYLOR, A.J. and VENABLES, K.M.: Clinical and Epidemiological Methods  
in Investigating Occupational Asthma.  
Clinics in Immunology and Allergy, 4,1, 3-17, 1984.
- 134.- BLAKEY, C.H.: Experimental Researchs on the Cause and Nature of Catarrhus Aestivus  
(Hay Fever), Londres, 1873.
- 135.- SQUIRE, J.R.: Tissue reactions to protein sensitization.  
Br. Med. J., 1,1, 1952.
- 136.- AAS, D.: Diagnosis of immediate type respiratory allergy.  
Pediat Clin North Am., 22,33, 1975.
- 137.- PRAUSTNITZ, C. and KUSTNER, H.: Studien uber die uberempfindlichkeit.  
Zbl. Bac.T. Abs. Orig., 86, 160, 1921.
- 138.- WIDE, L., BENNICH, H. and JOHANSSON, S.G.O.: Diagnosis of allergy by an in vitro test  
for allergen antibodies.  
Lancet, 2, 1105-1107, 1967.
- 139.- SCHUURS, A.J.W.M. and VAN WEEMEN, B.K.: Enzyme-Immunoassay.  
Clin, Chim. Acta., 81,1, 1977.
- 140.- MONEO, I., CUEVAS, M., UREÑA, V., ALVOVER, R. and BOOTELLO, A.: Reverse im-

mumoassay for the determination of dermatophagoides pteronyssinus IgE antibodies.

Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 71, 285, 1983.

- 141.- WRIGHT,B.M. and McKERROW,C.B.: Maximun forced expiratory flow rate as a measure of ventilatory capacity.  
Br. Med. J., 2, 1041, 1959.
- 142.- Recommended standard procedures for pulmonary funtion testing.  
Am. Rev. Respir. Dis. (suppl), 118,55, 1978.
- 143.- COCKCROFT,D.W., KILLAN,D.N., MELLON,J.J.A., HARGREAVE,F.E.: Bronchial reactivity to inhaled histamine. A method and clinical survey.  
Clinical Allergy, 7, 235-243, 1977.
- 144.- CHAI,H. FARR,R.S., FROELICH,L.A., MATHERSON,D.A., McLEAN,J.A., ROSENTHAL,R.R., SHEFFER,A.L., SPECTOR,S.L., TOWNLEY,R.G.: Standarization of bronchial inhalation procedures.  
J. Allergy Clin Immunol., 65,323, 1975.
- 145.- RYAN,G., DOLOVICH,M.B., OBMINSKI,G., COCKCROFT,D.W., JUNIPER,E., HARGREAVE,D.W., NEWHOUSE,M.T.: Standarization of in inhalation provocation test: Influence of nebulizaer output, partcle size and method of inhalation.  
J. Allergy Clin Immunol., 67,156, 1981.
- 146.- JUNIPER,E.F., FRITH,P.A., DUNNETR,C., COCKCROFT,D.W., and HARGREAVE,F.E.: Reproductibility and comparasion of responses to inhaled histamine and methacholine.  
Thorax,33,705, 1978.

- 147.- PEPYS,J., HUTCHCROFT,B.I.: Bronchial provocation test in etiology diagnosis and analysis of asthma.  
Am. Rev. Respir. Dis., 112, 829-859, 1975.
- 148.- TAYLOR,G. and SHIVALDKAR,P.R.: Changes in nasal airways resistance on antigenic challenge in allergic rhinitis.  
Clinical Allergy, 1,63, 1971.
- 149.- HOLOPAINEN,E. et al.: Nasal challenge.  
Rhinology, 14,181, 1976.
- 150.- TAYLOR,G.: The nose as a model for the study of respiratory tract allergyc disease. Ann. N.Y. Acad. Sci.: 221,117, 1974.
- 151.- MORROW BROWN,H., STANLEY,S., THAUTREY,N.: Prick testing for allergens standarised by using a precision needle.  
Clinical allergy, 11,95-98, 1981.
- 152.- CUEVAS,M., MONEO,I., URELA,V., DOMINGUEZ,J., and BOOTELLO,A.: Reverse Enzyme Immunoassay for the Determination of Lolium perenne IgE Antibodies.  
Int. Archs. Allergy Appl. Immunol., 72, 184-187, 1983.
- 153.- DOMINGUEZ,J. CUEVAS,M., MONEO,I., UREÑA,V., FERREIRA,A. and BOOTELLO,A.: Egg Hypersensitivity as Measures by Rast and Reverse enzyme-Immunoassay.  
Allergy, 39,529-533, 1984.
- 154.- NAKANE,P.: Preparation and standardization of enzyme-labelled conjugateds.  
In Nakanura, R.M., Dito,W.R., Tucker,S.E.(eds): Immunoassay in the clinical laboratory,

pp 81-87, Liss New York, 1979.

- 155.- CARRASCO DE LA PEÑA, J.L.: El método Estadístico en la Investigación Médica.  
Edt. Ciencia III, 3. Ed., Madrid, 1986.
- 156.- COWAN, D.W., THOMPSON, H.J., PAULUS, H.J. and MIELKE, P.W.: Bronchial asthma associated with air pollutants from the grain industry.  
J. Air Pollution Control Assc., 13, 546, 1963.
- 157.- SLAVIN, R.G. and LEWIS, G.R.: Sensitivity to enzyme additives in laundry detergent workers.  
J. Allergy Clin Immunol., 48, 262, 1971.
- 158.- CLEARE, M.J., HUGHES, E.J., JACOBS, B. and PEPYS, J.: Immediate (Type I) allergy responses to platinum compounds.  
Clin. Allergy., 6, 183, 1976.
- 159.- GROSS, N.J.: Allergy to laboratory animal: Epidemiologic, clinical and physiologic aspects and a trial of cromolyn in its management.  
J. Allergy Clin Immunol., 66, 158, 1980.
- 160.- CHANG-YEUNG, M. and GRZYBOWSKI, I.: Occupational asthma due to western red cedar (*Thuja plicata*).  
In Occupational asthma, Ed. by C.A. Frazier. Van Nostrand Reinhold, Co, 1980.
- 161.- LOSADA COSMES, E. y HINOJOSA MACIAS, M.: Asma ocupacional.  
en Tratado de Alergología e Inmunología Clínica, Tomo III, Alergología Clínica (I), Ed, por Luzan, S.A., Madrid 1986.

162.- DOLOVICH,J., SHAIKM,W., TARLO,S., BELL,B. and HARGREAVE,F.E.: Human exposure and senzitization to airborne papain.

Ann. of Allergy 38, Abst 382, 1977.

163.- MARCHIOLI,L., SOKOL,W.N., EELS,I.D. and NOVEY H.S. Papain induc Asthma.

Ann of Allergy 38, Abst 373, 1977.

164.- BAUR,X. and FRUHMANN,G.: Allergy reactions, including asthma, to the pineapple protease bromelain following occupational exposure.

Clinical Allergy, 9,443-450, 1979.

# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los señores *[firmas]* en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de D. ELOY LOSADA COSME titulada APORTACION AL ESTUDIO DEL ASMA OCUPACIONAL POR SENSIBILIZACION A ENZIMAS. ASPECTOS CLINICOS, INMUNOLOGICOS Y MODELOS DE RESPUESTA BRONQUIAL acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE POR UNANIMIDAD.

Sevilla, 12 de NOVIEMBRE 1990

El Vocal,

*[Firma]*  
El Presidente

El Vocal,

*[Firma]*  
El Secretario,

El Vocal,

*[Firma]*  
El Doctorado,