

EFFECTIVIDAD DIAGNÓSTICA DE LOS ANTÍGENOS COMO AGENTES CAUSALES DE NEUMONITIS POR HIPERSENSIBILIDAD EN LA EXPOSICIÓN A BIOPLAGUICIDAS

DIAGNOSTIC EFFECTIVENESS OF THE ANTIGENS AS CAUSAL AGENTS OF PNEUMONITIS BY HIPERSENSIBILITY AT EXPOSURE TO BIOPESTICIDES

Heliodora Díaz Padrón¹

Hilda Pauste Ruiz²

Tomasa María Esther Linares Fernández³

María Elena Guevara Andreu⁴

Liliana Villalba Rodríguez⁴

RESUMEN

Objetivo: Demostrar la efectividad del antígeno elaborado por el Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores (INSAT) de Cuba para el diagnóstico específico de la neumonitis por hipersensibilidad ocasionada por inhalación de las esporas de los hongos utilizados como bioplaguicidas. **Material y método:** Se realizó un estudio epidemiológico de caso-control a 84 trabajadores expuestos a bioplaguicidas, provenientes de los Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE) de las provincias Guantánamo y Santiago de Cuba. El grupo control lo constituyeron 40 trabajadores de otras entidades no expuestos a este factor de riesgo. Los sueros de los pacientes y controles fueron analizados por el ensayo inmunoenzimático ELISA, utilizando para ello los antígenos específicos, obtenidos en Cuba por el INSAT con la colaboración del BIOGEN, a partir de los hongos *Bauveria bassiana* (Bb), *Metarhizium anisopliae* (Ma), *Trichoderma sp* (Tsp) y *Verticillium lecanii* (VI) usados como bioplaguicidas. La efectividad del diagnóstico se determinó según los valores de sensibilidad y especificidad y los valores predictivos del resultado positivo y negativo, respectivamente, de acuerdo a la definición de Galeno y Gambino. **Resultados y conclusiones:** Los procedimientos empleados en esta investigación permitió ratificar la efectividad diagnóstica de los antígenos de Bb, Ma, Tsp y VI elaborados por el INSAT. La probabilidad de que un individuo enfermo sea clasificado como enfermo, expresado en términos de sensibilidad, fue de 80,9%, la probabilidad de que un individuo no enfermo sea clasificado como tal de acuerdo a su especificidad fue de 95% y los valores predictivos positivos y negativos fueron de 97 y 71,4%, respectivamente, los cuales son considerados niveles adecuados de acuerdo al método de diagnóstico del test ELISA empleado.

Palabras clave: bioplaguicidas, antígeno, exposición

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the effectiveness of the antigen elaborated in the National Institute for Workers' Health (INSAT) of Cuba for specific diagnosis of pneumonitis by hypersensitivity caused by inhaling the spores of the fungi used as biopesticides. **Material and method:** A case-control epidemiological study was done to 84 workers exposed to biopesticides coming from the Reproduction Centers of Entomophagous and Entomopathogenous

Fungi of the Guantánamo and Santiago de Cuba provinces. The control group was constituted by 40 workers of other entities not exposed to this risk factor. The patients' serum and controls were analyzed by the immunoenzymatic test (ELISA) using the specific antigens obtained in Cuba by INSAT, with the collaboration of BIOGEN, starting with *Bauveria bassiana* (Bb), *Metarhizium anisopliae* (Ma), *Trichoderma sp* (Tsp) and *Verticillium lecanii* (VI) fungi used as biopesticides. The effectiveness of the diagnosis was determined by the values of sensibility and specifications, and the predictive values of the positive and negative results, respectively, according to the definition of Galeno and Gambino. **Results and conclusions:** The procedures given in this investigation permitted us to confirm the diagnostic effectiveness of the antigen Bb, Ma, Tsp and VI elaborated by INSAT. The probability of a sick person to be classified as sick in terms of sensibility was of 80,9%; the probability of a none sick person be classified as such according to its specification was of 95% and the predictive positive and negative values were of 97 and 71,4%, respectively, which are considered adequate levels, according to the method of the used diagnostic test.

Key words: biopesticides, antigen, exposure

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, el hombre se percató de que los insectos que atacaban a los cultivos podían sufrir enfermedades. En 1834 Agostino Bassi demostró que la enfermedad que afectaba a las larvas de *Bombyx mori* o gusano de la seda, era causada por un microorganismo que se determinó como hongo *Beauveria bassiana*. En 1871 Metchnikoff dirigió las primeras investigaciones para utilizar microorganismos contra plagas e insectos mediante la infección de larvas de *Anisopliae austriaca* con el hongo *Metarhizium anisopliae*. Estos estudios fueron continuados por Gear y Krassilstchik en los años 1888-1889, y ya en Estados Unidos, entre los años 1921 y 1924, Berger y Fawcete aplicaron el hongo *Aschersonia aleyrodes* contra la mosca blanca de los cítricos, pero no es hasta

¹ Ingeniera química, Master en Salud de los Trabajadores, Investigadora Auxiliar, Profesora Instructor. Departamento de Riesgos Químicos, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

² Médico especialista de I grado en Inmunología. Hospital clínico quirúrgico docente 'Julio Trigo', La Habana, Cuba

³ Médico especialista de II grado en Medicina del Trabajo, Máster en Salud de los trabajadores, Investigadora Auxiliar, Profesora Auxiliar. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

⁴ Técnicas A Auxiliares de Investigación. Departamento de Riesgos Químicos, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

Correspondencia:

Ing. Heliodora Díaz Padrón

Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores

Calzada de Bejuca km 7 ½, Apartado 9064, CP10900, Arroyo Naranjo, Ciudad de La Habana, Cuba

E-mail: heliodora.diaz@infomed.sld.cu

1938 en que se elaboró el primer producto comercial a partir de una bacteria de la especie *Bacillus thuringiensis*¹⁻⁹.

En los últimos años se han producido bioplaguicidas en diferentes países a partir de hongos entomopatógenos para regular plagas agrícolas de importancia económica, por el daño que éstas pueden causar a los cultivos; así podemos citar países como Brasil, donde se produce *Metarhizium anisopliae* para el control de la mosca prieta de la caña de azúcar; Estados Unidos (Florida), que produce y emplea *Verticillium lecanii* contra la mosca blanca; algunos países de África producen *Metarhizium anisopliae* para el control de diferentes especies de salta hojas; Colombia y Venezuela producen y comercializan bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos; en la República Popular China, la antigua Unión Soviética y la República Checa, desde hace varias décadas se producen en forma industrial en grandes fábricas fermentativas bioplaguicidas a partir de *Bacillus thuringiensis*. Éstos son ejemplos de que el método biológico constituye para muchos países del mundo la piedra angular para el control de plagas^{4,5}.

En la actualidad, existe una tendencia cada vez mayor al uso de los bioplaguicidas para el control de las plagas de los cultivos por considerarse que son altamente selectivos, ambientalmente inofensivos y de utilización segura para el hombre; entre éstos se destacan los producidos a partir de los hongos *Beauveria bassiana* (Bb), *Metarhizium anisopliae* (Ma), *Trichoderma spp* (T) y *Verticillium lecanii* (Vl)¹⁰⁻¹⁶.

Hemos encontrado múltiples reportes acerca de investigaciones sobre el uso de estos bioplaguicidas para el control de las plagas y sus ventajas¹⁷⁻²³. Sin embargo, la utilización de los mismos no está totalmente exenta de riesgos para algunos animales, entre los que se encuentran los vertebrados, incluido el hombre, y existen comunicaciones que explican que el trabajo con estos bioplaguicidas puede constituir un riesgo para los trabajadores expuestos²⁴⁻²⁶. Se ha observado que las reacciones más adversas para los humanos se relacionan con la inhalación de grandes cantidades de esporas en el lugar de trabajo, pudiendo aparecer enfermedades dermatológicas, alérgicas y respiratorias de acuerdo con la concentración del material aspirado, el tiempo de exposición y la susceptibilidad del individuo⁷⁻³¹.

En Cuba en 1969, el Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ICIDCA) llevó a cabo una serie de investigaciones para implantar el uso de bioplaguicidas en la agricultura cañera, por considerarlos menos costosos y poco nocivos a la salud humana y al medio ambiente.

Desde los años 70, el Ministerio de la Agricultura de Cuba (MINAGRI) comenzó a desarrollar estrategias que condujeran a una agricultura de menos insumos y, por tanto, más racional; en respuesta a esto, diversas instituciones de investigación en el país elaboraron programas basados en principios como el uso de leguminosas en la agricultura y pecuaria, abonos

orgánicos y manejo integrado de plagas y el control biológico de las mismas^{6,9}.

A partir de 1980, comienzan a crearse centros de producción artesanal descentralizada, que reproducen masivamente un grupo de entomófagos y entomopatógenos para utilizarlos como bioplaguicidas en el control de las plagas, los que en 1989 se extienden a todo el país. Actualmente en Cuba existen más de 300 Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos (CREE), con alrededor de 3 000 trabajadores expuestos, para dar servicios a agricultores estatales y privados, así como a cooperativistas. Comúnmente, la producción de bioplaguicidas a partir de bacterias se realiza por métodos industriales. En el caso de los productos de origen fúngico que se emplean como biopesticidas, éstos se obtienen por métodos artesanales, debido a que la calidad de las esporas y su capacidad infectiva para los patógenos de los cultivos, así como la resistencia a las condiciones ambientales, son determinantes en la calidad del bioplaguicida, y a través de procesos industriales no se logra obtener esporas con estas características, lo que sí resulta posible mediante producciones artesanales o semi artesanales³¹.

La producción artesanal en Cuba se realiza mediante dos métodos: 1) Cultivo líquido estático y 2) sobre sustrato sólido. En el cultivo líquido estático, los hongos se pueden reproducir mediante cultivo sobre medio líquido usando subproductos de la industria azucarera. Esta producción tiene la desventaja de que sólo puede almacenarse por quince días, siempre que se mantenga la refrigeración; es difícil su almacenamiento, traslado y posterior aplicación en los campos. El cultivo sobre sustrato sólido es el método de elección en los CREE. Se realiza empleando cabecilla de arroz o bagacillo de caña; tiene una primera fase de propagación de los hongos en un medio líquido; una vez desarrollado el cultivo inicial hasta la fase de esporulación, éste se utiliza para inocular el arroz previamente esterilizado y distribuido en los frascos o bandejas de reproducción, en el cual también se le ajusta la humedad necesaria para el desarrollo del hongo. Al inocular, además de las esporas y cristales, se incluyen residuos del medio de cultivo del inóculo que no fueron totalmente agotados durante la etapa de propagación, y que favorecen el desarrollo del hongo sobre el sustrato sólido. Después de 7 días, la inoculación permite su nueva propagación hasta la formación de esporas y cristales, momentos en que se realiza la cosecha, manteniéndola de 48 a 72 horas en una habitación con temperatura menor que 20°C y un deshumidificador para eliminar su humedad residual. Una vez seco, se distribuye en bolsas plásticas y se almacena durante 3 meses de 20 a 25°C. Este método facilita el traslado y aplicación del bioplaguicida en los campos.

Es durante la cosecha, en el momento del proceso de producción, en que los trabajadores se ven expuestos a la aspiración de la mayor cantidad de esporas, lo cual ha tratado de disminuirse al máximo mediante la

utilización de equipos de protección con filtro P3 y modificando condiciones higiénico-estructurales en los CREE; a pesar de esto, los trabajadores refieren en muchos casos mantener la sintomatología correspondientes a las neumonitis por hipersensibilidad (NH), la que se define como una inflamación del parénquima pulmonar inducida inmunitariamente que afecta las paredes alveolares y las vías respiratorias terminales, consecutiva a la inhalación de algunos polvos orgánicos y otros agentes por un huésped susceptible³².

En nuestro país, a finales de 1997, en los CREE del MINAGRI se reportan los 7 primeros casos de desviaciones de salud entre el personal expuesto al hongo Bb. Las manifestaciones clínicas fundamentales que motivaron la notificación fueron: cefaleas, fiebre de más de 38 °C, dolores articulares, acompañados de escalofríos y gran toma del estado general, lo que ocurría entre las 4 y 6 horas después de haber terminado su labor cosecha) y desaparecían en 24 horas, generalmente sin tratamiento médico.

Estos casos fueron evaluados por un equipo multidisciplinario del Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores (INSAT), centro rector de la salud ocupacional en nuestro país, llegándose a la conclusión diagnóstica de que estábamos en presencia de trabajadores con neumonitis por hipersensibilidad.

El reporte de casos con las características antes descritas continuó su incremento en todas las provincias del país. Se muestra la situación como un problema a resolver y la necesidad de realizar un diagnóstico certero y rápido, pues de ello depende la posterior evolución de los pacientes.

Basados en el conocimiento de que los sueros de la mayor parte de las personas con neumonitis por hipersensibilidad clínicamente evidenciable contienen niveles elevados de anticuerpos específicos contra el agente causal inhalado, y que la detección de su presencia juega un papel importante para confirmar el diagnóstico presuntivo, se elaboró por los investigadores del INSAT, en colaboración con el Centro Nacional de Biopreparados (BIOCEN), un medio diagnóstico a partir de las cepas de los extractos antigénicos de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma spp* y *Verticillium lecanii*³³.

Nos proponemos con nuestro estudio demostrar la efectividad de los antígenos elaborados por nuestro centro para el diagnóstico específico de la neumonitis por hipersensibilidad ocasionada por inhalación de las esporas de los hongos Bb, Ma, T y VI utilizados como bioplaguicidas, los cuales pudieran ser aplicables al resto de los centros productores del país para la confirmación diagnóstica de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio epidemiológico de caso-control a 84 trabajadores expuestos provenientes de los CREE de las provincias Guantánamo y Santiago de Cuba. El grupo control lo constituyeron 40 trabaja-

dores de otras entidades no expuestos a este factor de riesgo.

Los sueros de los pacientes y controles fueron analizados por el ensayo inmunoenzimático ELISA, utilizando para ello los antígenos específicos obtenidos en Cuba por el INSAT con la colaboración del BIOCEN, a partir de los hongos *Bauveria bassiana* (Bb), *Metarhizium anisopliae* (Ma), *Trichoderma sp* (Tsp) y *Verticillium lecanii* (VI) usados como bioplaguicidas. La efectividad del diagnóstico se determinó según los valores de sensibilidad y especificidad y los valores predictivos del resultado positivo y negativo, respectivamente, de acuerdo a la definición de Galeno y Gambino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El grupo de estudio estuvo constituido por 84 sujetos de los CREE pertenecientes a Santiago de Cuba y Guantánamo, y el control de 40 trabajadores que no presentaron este tipo de exposición, con edades medias y sexos similares.

En las historias clínicas realizadas al paciente y al control (tabla 1), pudimos observar los síntomas y signos presentados por ambos grupos en su sistema respiratorio, y cabe destacar que la mayor incidencia estuvo presente en el personal expuesto comparado con el grupo control, donde se destacaron el dolor de cabeza, malestar general, tos, dolor en la garganta y falta de aire, con un 52,4, 41,7 y 38,1%, respectivamente. Donde se tiene similitud de síntomas es en los dolores musculares, para un 38,1 y 37,5% en los grupos.

Se contactaron 12 puestos de trabajo en el proceso productivo, y se observó que el 61,9 % de los trabajadores (tabla 2) tenían un tiempo de permanencia en su puesto de trabajo de más de 11 años, por lo que podemos considerar que es un personal muy estable y puede desencadenar un proceso de enfermedad crónica desde el punto de vista dermatológico, respiratorio o alérgico⁷⁻³¹.

El antígeno utilizado en ambos grupos tuvo un comportamiento de reactividad en los expuestos de un 80,9% de positividad (tabla 3), o sea, verdaderamente reaccionaron los sueros de 68 sujetos del total de 84, y de los no expuestos fue de un 5%, es decir, reaccionaron solamente 2 sujetos no expuestos. De acuerdo a este tipo de prueba, se puede considerar que tiene una buena reactividad el antígeno.

Con respecto a la efectividad diagnóstica con el uso de la prueba enzimática ELISA (tabla 4), vemos que la probabilidad de que un individuo enfermo (expuesto) sea clasificado como tal con el uso del criterio de la sensibilidad, fue del 80,9%, y que la probabilidad de que un individuo no enfermo sea clasificado como tal, expresado en especificidad, fue del 95%. Al analizar la proporción de que un caso sea verdaderamente positivo respecto a aquellos que han sido identificados como positivos -valor predictivo del resultado positivo (VPP)-, alcanzó un valor del 97%, y el valor

predictivo del resultado negativo (VPN), o sea, la posibilidad de que un caso sea verdaderamente negativo respecto a aquéllos que han sido identificados co-

mo tal, alcanzó el valor de 71,4%. Todos estos resultados son considerados adecuados de acuerdo al método enzimático utilizado^{34,35}.

Tabla 1
Síntomas y signos presentes en el grupo de estudio

Síntomas y signos	Expuestos		No expuestos	
	Nº	%	Nº	%
Expectoración	14	16,7	3	7,5
Malestar general	35	41,7	2	5,0
Dolores musculares	32	38,1	15	37,5
Fiebre	8	9,5	2	5,0
Escozor en la gargantea	35	41,7	6	15,0
Tos	35	41,7	8	20,0
Dolores articulares	36	12,8	14	35,0
Escalofríos	13	15,5	2	5,0
Dolor de cabeza	44	52,4	14	35,0
Falta de aire	32	38,1	11	27,5

Fuente: Historias clínicas

Tabla 2
Tiempo de permanencia en el puesto de trabajo de los trabajadores estudiados

Puesto de trabajo	< 1		1 a 5		6 a 10		11 y más		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Auxiliar técnico							2	2,4	2	2,4
Especialista de producción de planta			1	1,2	2	2,4	2	2,4	5	5,9
Especialista de control de la calidad			2	2,4			6	7,1	8	9,5
Técnico			8	9,5	1	1,2	25	29,8	34	40,5
Auxiliar de laboratorio			4	4,8	2	2,4	6	7,1	12	14,3
Auxiliar de limpieza			2	2,4	1	1,2			3	3,6
Jefe de laboratorio			3	3,5			3	3,6	6	7,1
Ingeniero agrónomo							3	3,6	3	3,6
Licenciado en Biología	1	1,2	1	1,2			1	1,2	3	3,6
Productor			1	1,2					1	1,2
Director			1	1,2	1	1,2	3	3,6	5	5,9
Jefe técnico					1	1,2	1	1,2	2	2,4
Total	1	1,2	23	27,4	8	9,5	52	61,9	84	100,0

Fuente: Encuesta

Tabla 3
Comportamiento de la reactividad

Parámetros	Expuestos	No expuestos
Nº total	84	40
Promedio DO	0,984	0,397
ST	0,627	0,159
Nº de positivos	68	2
% de positividad	80,9	5

Tabla 4
Efectividad del diagnóstico

Crterios	%	Intervalo de confianza 95%
Sensibilidad (S)	80,9	(73,8-92,2)
Especificidad (E)	95	(81,8-99,1)
Valor predictivo positivo (VPP)	97	(87,3-99,4)
Valor predictivo negativo (VPN)	71,4	64,3-85,0)

A manera de conclusiones, el antígeno obtenido a partir de hongos usados como bioplaguicidas ha sido efectivo en el suero de trabajadores expuestos, lo cual será, indiscutiblemente, de utilidad para el diagnóstico diferencial de las neumonitis por hipersensibilidad debido a esta exposición.

Es recomendable, finalmente, continuar estudios inmunológicos con estos antígenos que permitan obtener algún indicador preventivo a estas exposiciones, así como explorar la posibilidad de ensayar procedimientos más sencillos que puedan ser utilizados por la red nacional de centros de higiene y epidemiología para el control de estos trabajadores expuestos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jiménez J. Uso de controladores biológicos en la agricultura tropical. Experiencia cubana. La Habana: Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal; 2000.
2. Lacey A, Wayne M. Initial landing and diagnosis of diseases insects. En: Manual of techniques on insect pathology. New York: Lawrence Lacey Scod Press; 1996. p. 115.
3. Lecuona R. Microorganismos patógenos en el control microbiano de insectos plagas. Buenos Aires: Talleres Gráficos Mariano Más; 1996. p. 35-119.
4. FAO. Agricultural Services Bulletin 1996:1-27.
5. Fernández O. Temas interesantes acerca del control microbiológico de plagas. La Habana: Centro de Información y Documentación de Sanidad Vegetal, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal; 2001. p. 6-133.
6. Funes F. Experiencia cubana en agronomía. Agricultura orgánica 1997;(2-3):10-4.
7. Montano R, Pérez N, Vizcaíno AM. Los plaguicidas en Cuba. ¿Y en el futuro qué? Agricultura Orgánica 1997;(2-3):19-21.
8. Stefanova M. Biopreparado de *Trichoderma*: una forma de lucha efectiva contra patógenos fúngicos del suelo. Agricultura Orgánica 1997;(2,3):22-24
9. Sandoval I, López O. Parasitismo de *Trichoderma t.*, *Viride* y *Tpseudokoningii* sobre diferentes hongos fitopatógenos. Fito Sanidad. Un enfoque actual de Sanidad Vegetal 2001:5(1):41-42.
10. Funnayor M, Sayogo M. Plaguicidas microbianos: una alternativa del control biológico. Revista de Difusión de Tecnología Agrícola y Pesquera del FONAIAP 1996;(52):67.
11. Rooset P, Moore M. La seguridad alimentaria y la producción local de biopesticidas en Cuba. Leisa. Boletín de ILEIA para la Agricultura de Bajos Insumos Externos 1998;13 (4):18-9.
12. Gutiérrez C, Guharay F. Formulación de *Beauveria bassiana* (Bals) con NV-Film 17 para el control de larvas de *Plutella xylostella* (1). Revista de la Escuela de Sanidad Vegetal 1992;2 (3):67-8.
13. Goettel M, Jaronski ST. Safety and registration of microbial agents for control of grasshoppers and locusta. Memories of the Entomological Society of Canada 1997;7:83-99.
14. Martínez JR, Hernández F, Rodríguez S, Fuentes M, Emuk Y, Viamontes M. Enemigos naturales de plagas en el ecosistema arrocero del CAI Ruta Invasora. Forum Tecnológico sobre el Manejo Integrado de Plagas. Ciudad de La Habana, 27-28 Mayo 2000.
15. Murguido C, Vázquez L. Manejo integrado de plagas en el tomate. Boletín Fitosanitario 2000;6:6-20.
16. De la Torre SI. Trichograma. Biología sistemática y su aplicación. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1993.
17. Hernández AG, Núñez CO, Gómez R. Evaluación de tres hongos entomopatógenos: *Metarhizium anisopliae* para el control de chinche salivosa (*Aeneolamia sp*) en caña de azúcar. Tikalia 1996; 14(I):29-58.
18. Hanson P. Control biológico de *Phyllphaga ssp*. Depredadores y parásitos. Catie 1996;(27):27-74.
19. Shannon P. Control microbiano de *Phyllophaga ssp*. Depredadores y parásitos. Catie 1996;(27):83-93.
20. Pérez N. Bioplaguicidas y agricultura. Agricultura Orgánica 1997;38(2-3):18-21.
21. Rojo E. Control biológico de garrapatas con hongos entomopatógenos. Agricultura Orgánica 1997;3(2-3):25-6.
22. Fernández SA, Calmenares X. Evaluación de *Beauveria bassiana spp* para el control de *Premnotrypes vorax Hustacte* (coleóptera curculeonidae) en el cultivo de la papa. Agronomía Tropical 1997; 47(3):249-57.
23. Zejda JE, Dosman JA. Respiratory disorders in agriculture. Tubercle and Lung Disease 1993;74: 74-86.

24. Nakagawa K, Yoshida MD, Masayuki MD, Dosman JA. Fatal cases of Farmer's Lung in Canadian family. *Chest* 1997;245-8.
25. Genthner F, Meddaugh DP. Effect of *Beauveria* on embryo of the Oni and silverside fish (*Menidia berylina*). *Appl Environ Microbiol* 1992;58(9): 2840-5.
26. Cook JR. Safety of Micro Organisms intended for pest and plants disease control. A Framer Work for Scientific Evolution. *Biological Control* 1996;7: 333-51.
27. Maimberg P, Rask-Andersen A, Presenhal L. Exposición a microorganismos asociado a la alveolitis alérgica y reacciones febriles a polvos de hongos entre agricultores. *Boletín Bibliográfico de la Prevención* 1994;25(5):96.
28. Sanderson W, Kullman G, Sastre J. Manifestaciones de alveolitis alérgica extrínseca en cultivadores de hongos. *Amer J Med* 1992;22(6):859-72.
29. Stankus RP. Immunology of hypersensitivity pneumonitis. *Crit Rev Toxicol* 1992;11:15.
30. Labarrere N, Hechevarría J, León E, Pauste H, Castellanos JA, Guevara ME, la Rosa J. Estudio de un grupo de trabajadores expuestos a *Beauveria bassiana*. *Revista Cubana de Salud y Trabajo* 2000;1(1):36-8.
31. La Rosa J, Labarrere N, Pareja I, Rodríguez J. Necesidad de implementar un sistema de atención médica para los trabajadores de sanidad vegetal expuestos a riesgos biológicos. *Revista Cubana de Salud y Trabajo* 2002;2-3:66-8.
32. Labarrere N, Labrada A, Pauste H, Ávilas I, Guevara ME. Medio diagnóstico para la identificación de agentes causales de neumonitis por hipersensibilidad a bioplaguicidas. Patente N° 149, *Inventiones y Modelos Industriales*. La Habana: Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores; 2006.
33. Labarrere N. Evaluación de un antígeno de *Beauveria bassiana* para el diagnóstico de neumonitis por hipersensibilidad. Trabajo para optar por el título de Máster en Salud de los Trabajadores. La Habana: Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores; 2003.
34. Jawetz E, Einik JL, Adelberg EA. Manual de microbiología médica. 9ª ed. La Habana: Edición Revolucionaria 1988. p.147-67.
35. Davis B, Dulbeco R, Bisen H, Ginsberg H, Wood W. Reacciones antígenos-anticuerpos. En: *Tratado de Microbiología*. 2ª ed. Barcelona: Salvat SA; 1979. p.375-421.

Recibido: 19 de mayo de 2008

Aprobado: 30 de octubre de 2008