



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA - PPGIm**



**SAMUEL BADARÓ JUNQUEIRA**

**EXPOSIÇÃO A ALÉRGENOS DE POEIRA DOMÉSTICA E SUA ASSOCIAÇÃO  
COM ATOPIA E ASMA EM CRIANÇAS ENTRE 4 E 12 ANOS DE IDADE EM  
SALVADOR, BAHIA**

**Salvador, Bahia**

**2008**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**SAMUEL BADARÓ JUNQUEIRA**

**EXPOSIÇÃO A ALÉRGENOS DE POEIRA DOMÉSTICA E SUA ASSOCIAÇÃO  
COM ATOPIA E ASMA EM CRIANÇAS ENTRE 4 E 12 ANOS DE IDADE EM  
SALVADOR, BAHIA**

**Dissertação de mestrado apresentada ao curso de Pós-graduação em Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia.**

**Orientadora: Dra. Neuza Maria Alcântara Neves**

**Salvador, Bahia**

**2008**

Ficha Catalográfica elaborada pela  
Biblioteca do Instituto de Ciências da Saúde da UFBA – Salvador – Bahia

J95

Junqueira, Samuel Badaró,

Exposição a alérgenos de poeira doméstica e sua associação com atopia e asma em crianças entre 4 e 12 anos de idade em Salvador, Bahia / Samuel Badaró

Junqueira. – Salvador, 2008

94 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Neuza Maria Alcântara Neves.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Imunologia, 2008.

1. Alérgenos - Imunologia. 2. Asma - Criança. 3. Testes cutâneos. 4. *Dermatophagoides pteronyssinus* – Imunologia. I. Neves, Neuza Maria Alcântara. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 616.248

**SAMUEL BADARÓ JUNQUEIRA**

**EXPOSIÇÃO A ALÉRGENOS DE POEIRA DOMÉSTICA E SUA ASSOCIAÇÃO  
COM ATOPIA E ASMA EM CRIANÇAS ENTRE 4 E 12 ANOS DE IDADE EM  
SALVADOR, BAHIA**

**Dissertação de mestrado apresentada ao curso de Pós-graduação em Imunologia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia.**

Trabalho realizado no Laboratório de Alergia e Acarologia, Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

Data de aprovação: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Banca examinadora:

---

Nome, titulação

Instituição a que pertence



## AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus avós, por terem me dado uma boa orientação para que eu conseguisse ser um homem de bem, com bons valores morais, buscando amar minha família, meu trabalho e minha religião, assim como a toda minha família, me dando apoio em todos os momentos.

À minha mulher e filho, fontes de inspiração e que puderam me dar condições para realização deste sonho.

À Prof<sup>a</sup>. Neuza Maria Alcântara Neves, por ter me acolhido como aluno e orientado este trabalho com toda sua experiência acadêmica e de vida, sem a qual não seria possível a realização desta dissertação.

Ao Prof. Maurício Barreto, por coordenar o projeto SCAALA e nos proporcionar a oportunidade de crescimento acadêmico e de pesquisa, disponibilizando dados importantes no estudo da asma e da alergia em nossa comunidade.

A todos os colegas do Laboratório de Alergia e Acarologia / ICS – UFBA, pelo apoio e principalmente pelo sentimento de equipe necessários à realização deste trabalho.

À equipe SCAALA, por transmitir, através da experiência de seus membros, todo um conhecimento acerca da epidemiologia e análises estatísticas que foram essenciais para elaboração deste trabalho.

A todos os membros do Programa de Pós-graduação em Imunologia (PPGIIm) do Instituto de Ciências da Saúde, pelo apoio logístico ao meu curso de mestrado.

**"A cura está ligada ao tempo  
e às vezes também às  
circunstâncias" (Hipócrates)**



## RESUMO

**Título:** Exposição a alérgenos de poeira doméstica e sua associação com atopia e asma em crianças entre 4 e 12 anos de idade em Salvador, Bahia.

**Introdução:** Os alérgenos de poeira domiciliar são considerados fatores de risco para o aumento na prevalência e incidência das doenças alérgicas, observado nos últimos 30 a 40 anos. Alguns estudos mostram uma relação dose-resposta entre exposição a estes alérgenos e ocorrência de sensibilização e desencadeamento de sintomas alérgicos. **Objetivos:** Investigar possíveis associações entre exposição aos alérgenos domiciliares Der p 1, Blo t 5, Can f 1, Fel d 1 e Bla g 2 e a sensibilização específica para os organismos ou produtos de organismos, fontes destes alérgenos e sintomas de asma em 1190 crianças de 4 a 12 anos, participantes do programa SCAALA, na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. **Métodos:** Foram coletadas informações sobre história de asma e outras doenças alérgicas através de um questionário do ISAAC fase II modificado. Foram realizados teste de puntura cutâneo usando extratos de *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *P. americana*, *B. germanica*, epitélio de cão, epitélio de gato e mistura de fungos em todas as crianças do estudo. Foram realizadas as dosagens de IgEs séricas específicas para *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *P. americana* e *B. germânica*. Foram coletadas amostras de poeira dos leitos destas crianças e detectadas as concentrações dos alérgenos Der p 1, Blo t 5, Can f 1, Fel d 1 e Bla g 2 destas amostras através de ELISA de captura. **Resultados:** O alérgeno mais freqüente nos leitos foi o Der p 1 (89,2%) seguido dos alérgenos Can f 1 (78,0%), Fel d 1 (75,0%), Blo t 5 (58,2%) e Bla g 2 (24,1%). Metade das crianças estudadas (50,0%) eram sensibilizadas, sendo 44,5% ao *B. tropicalis* e 28,9% ao *D. pteronyssinus*. Destas crianças 22,6% eram asmáticas. Para o alérgeno Der p 1 houve associação positiva entre exposição a concentrações  $\geq 2,0\mu$  g/g de poeira e atopia (OR: 1,70; IC 95%: 1,04-2,78). Nas crianças com pais asmáticos, houve uma resposta aumentada dose-dependente para asma. Para o alérgeno de gato (Fel d 1) houve uma associação negativa entre asma e exposição ao alérgeno em concentrações  $\geq 1,0\mu$  g/g (OR: 0,54; IC 95%: 0,32-0,93). Para os demais alérgenos não foram encontradas associações com atopia ou asma. **Conclusões:** Os alérgenos de *B. tropicalis* foram os que mais induziram sensibilização nas crianças, porém não foi encontrada associação com atopia ou asma provavelmente às limitações do ensaio para detecção do alérgeno. O alérgeno do *D. pteronyssinus* (Der p 1) foi associado positivamente com sensibilização e, diante da tendência a uma relação dose-

resposta com asma em crianças com pais asmáticos, evidencia uma possível associação genética-ambiental na manifestação da doença. A associação negativa para asma do alérgeno de gato (Fel d 1) provavelmente indica a ocorrência de fatores desconhecidos que podem estar agindo no sistema imune e diminuindo os sintomas desta doença.

Palavras-chave: Alérgenos. Asma. Testes cutâneos. *Dermatophagoides pteronyssinus*.

## ABSTRACT

**Title: Exposure to house dust allergens and their association with atopy and asthma in children between 4 and 12 years-old in Salvador, Bahia.**

**Introduction:** The allergens present in the house dust are considered risk factors for increase in prevalence and incidence of allergic diseases, observed in the last 30 to 40 years. Some studies show a dose-response relationship between exposure to these allergens and occurrence of sensitization and allergic symptoms. **Objectives:** To investigate possible associations between exposures to indoor allergens Der p 1, Blo t 5, Can f 1, Fel d 1 and Bla g 2 with sensitization to their organism or organism production sources and asthma symptoms in 1190 children 4 to 12 years-old, enrolled in SCAALA program, in the city of Salvador, Bahia, Brazil. **Methods:** History of asthma and other allergic diseases were collected through an phase II ISAAC modified questionnaire. Skin prick tests were carried out using extracts of *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *P. americana*, *B. germanica*, dog and cat epithelium and fungi mix in all children in the study. Specific IgE for allergens (*D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *P. Americana* and *B. germanica*) were measured. Dust were collected from the beds of these children and assayed for the Der p 1, Blo t 5, Can f 1, Fel d 1 and Bla g 2 allergens by capture ELISA. **Results:** The most common allergen in bed was Der p 1 (89.2%), followed by Can f 1 (78.0%), Fel d 1 (75.0%), Blo t 5 (58.2%) and Bla g 2 (24.1%) allergens. Half of the children (50.0%) were sensitized; 44.5% to *B. tropicalis* and 28.9% to *D. pteronyssinus*. 22.6% of these children were asthmatic. There was a positive association between Der p 1 exposure  $\geq 2.0\mu$  g/g with atopy (OR: 1.70, CI 95%: 1,04-2,78). Children with asthmatic parents had a dose-dependent increasing response to asthma. For the cat allergen (Fel d 1) there was a negative association between asthma and exposure to the allergen in concentrations  $\geq 1,0\mu$  g/g (OR: 0.54, CI 95%: 0,32-0,93). There was no association between allergy or asthma and exposure to the other allergens. **Conclusions:** *B. tropicalis* allergens induced higher sensitization in the children than other allergens, however, it was not found association with atopy or asthma probably because the assay for its detection. The *D. pteronyssinus* allergen (Der p 1) was positively associated with sensitization, and had a trend for dose-response relationship with asthma in children with asthmatic parents, showing a possible gene-environment association in the onset of disease. The negative association between cat allergen (Fel d 1) and asthma probably indicates the influence of unknown factors, acting in the

immune system decreasing the symptoms of this disease.

Keywords: Allergen. Asthma. Skin tests. *Dermatophagoides pteronyssinus*.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Prevalência de doenças alérgicas em crianças pré-escolares em Aberdeen, Inglaterra. Diagnóstico baseado em questionários.....16**
- Figura 2 – Prevalência de sensibilização aos alérgenos específicos para os níveis de exposição categorizados aos respectivos alérgenos.....20**
- Figura 3 – A) *B. tropicalis* em cultura feita no Laboratório de Alergia e Acarologia – UFBA (Retirado de Jesus, J.R., 2006) B) Vista frontal do *Blomia tropicalis* aumentado 200 vezes.....23**
- Figura 4 – Prevalência de asma definida como presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança e algum dos outros sintomas descritos em Métodos nas diferentes categorias de exposição ao alérgeno Der p 1 em crianças atópicas ou não para este alérgeno. Atopia definida como presença de IgE específica (acima de 0,35KU/L) e/ou TPC (média acima de 4 mm da média do controle negativo) para o alérgenos Der p 1. A variável asma nos pais foi definida como resposta positiva a pergunta se o pai ou mãe da criança teve asma.....43**

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Referências da literatura dos pontos de corte baixo e alto para os aeroalérgenos estudados.....	32
Tabela 2 - Características da população estudada.....	34
Tabela 3 - Prevalências de atopia e asma nas crianças 1190 estudadas, Salvador, 2005.....	35
Tabela 4 - Frequência dos alérgenos das poeiras nos leitos das 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005.....	36
Tabela 5 - Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e atopia* em 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005.....	37
Tabela 6 - Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 1) em 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005.....	39
Tabela 7 - Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 2) em 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005.....	40
Tabela 8 - Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 2) em crianças atópicas e não atópicas para os alérgenos específicos.....	41
Tabela 9 - Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 2) nas crianças estudadas com e sem asma nos pais.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS

Bla g 1 – Alérgeno do grupo 1 da *Blatella germanica*

Bla g 2 – Alérgeno do grupo 2 da *Blatella germanica*

Blo t 5 – Alérgeno do grupo 5 do *Blomia tropicalis*

Can f 1 – Alérgeno do grupo 1 do *Canis familiaris*

CD (*Cluster of differentiation*) – Agrupamento de diferenciação

Der p 1 – Alérgeno do grupo 1 do *Dermatophagoides pteronyssinus*

Fcε RI – Receptor da fragmento cristalizável da cadeia epsilon de alta afinidade

Fel d 1 – Alérgeno do grupo 1 do *Felis domesticus*

IgD – Imunoglobulina da classe D

IgE – Imunoglobulina da classe E

IgG – Imunoglobulina da classe G

IL – Interleucina

kDA – Kilodáltons

MHC (Major histocompatibility complex) – Complexo principal de histocompatibilidade

MIP-1α – Proteína 1 alfa inflamatória de macrófagos

OR (Odds ratio) – Razão de chances

PBS – Solução salina fosfatada, pH 7,4

PBS/Azida – Solução salina fosfatada, pH 7,4 contendo 0,12% de azida

PBS/T – Solução salina fosfatada, pH 7,4 contendo 0,05% de Tween 20

PBS/T/BSA – Solução salina fosfatada, pH 7,4 contendo 0,05% de Tween 20 e 1,0% de albumina bovina

SBF – Soro bovino fetal

Th2 – Linfócitos T auxiliares tipo 2

TNF-α – Fator de necrose tumoral alfa

TPC – Teste de puntura cutâneo

μ g/g – Microgramas por grama

μ L – Microlitros

## **LISTA DE SIGLAS**

ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*) – Estudo internacional de asma e alergias em crianças

SCAALA (*Social change in asthma and allergies in Latin América*) – Mudanças sociais na asma e alergias na América do Sul



## **APOIO FINANCEIRO**

Programa *Social Changes in Asthma and Allergy in Latin America* (Mudanças sociais na asma e alergias na América Latina – SCAALA) - Wellcome Trust, UK, HPCP Latin América Excellence Programme, Ref. 072405/Z/03/Z.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1	Doenças alérgicas: epidemiologia, imunopatogênese e definições .....	16
<b>1.2</b>	<b>Alérgenos domiciliares</b> .....	<b>19</b>
1.2.1	Ácaros de poeira e seus alérgenos .....	20
1.2.1.1	Der p 1 .....	22
1.2.1.2	Blo t 5 .....	22
1.2.2	Alérgenos de animais domésticos .....	23
1.2.3	Alérgenos de baratas .....	24
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
2.1	Objetivo geral .....	26
2.2	Objetivos específicos .....	26
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>27</b>
3.1	População do estudo e coleta dos dados .....	27
3.2	Teste de puntura cutâneo .....	28
3.3	Determinação de IgE específica .....	28
3.4	Coleta, armazenamento das amostras de poeira e dados ambientais .....	28
3.5	Dosagem dos alérgenos na poeira .....	29
3.6	Exame Parasitológico de Fezes .....	30
3.7	Análise estatística .....	31
3.8	Considerações éticas .....	32
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>6</b>	<b>SUMÁRIO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES</b> .....	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>APÊNDICE A – Manuscrito</b> .....	<b>65</b>
<b>9</b>	<b>ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido</b> .....	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Doenças alérgicas: epidemiologia, imunopatogênese e definições

Em muitos países tem se observado uma elevação na incidência de doenças associadas com manifestações alérgicas. Esse aumento tem se observado em relação a asma, rinite alérgica e eczema atópico (Peat e cols., 1994; Upton e cols., 2000) como pode ser observado na figura abaixo (Devenny e cols., 2004).

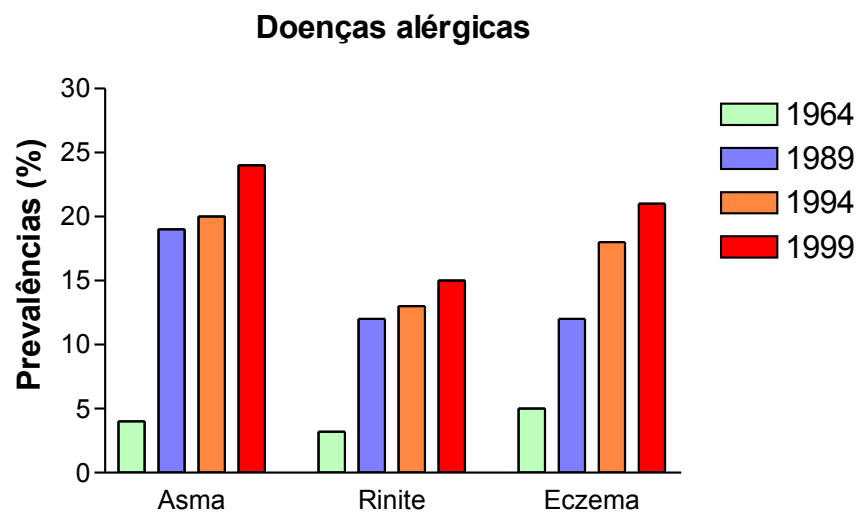


Figura 1 - Prevalências de doenças alérgicas em crianças escolares em Aberdeen, Inglaterra. Diagnóstico baseado em questionários. Dados de Devenny e cols., 2004.

Em um relato do grupo de estudo *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (Estudo Internacional sobre Asma e Alergias na Infância – ISAAC; 1998) foram encontradas nas capitais de estados do Brasil, assim como em Salvador, prevalências de alergia tão altas quanto em países do 1º Mundo como Estados Unidos, Inglaterra e Austrália. Em estudos realizados em cidades da região Nordeste do Brasil, foram observadas prevalências intermediárias e altas de asma, rinite e eczema (Solé e cols., 2006; Baqueiro e cols, 2007).

Algumas razões para explicar este aumento da incidência de doenças alérgicas estão sintetizadas na *teoria da higiene*, proposta por Strachan D.P. (1989), a qual postula que a

melhoria das condições de saúde dos indivíduos na infância (devido a mudança no estilo de vida da população mundial como saneamento, urbanização, dieta, vacinação, menor exposição a infecções) ocorrida nas últimas décadas estaria diretamente ligada a manutenção da resposta imune Th2, predispondo o desenvolvimento de hipersensibilidade a alérgenos ambientais e a manifestações de alergia. As infecções por helmintos como o *Shistosoma mansoni*, por exemplo, podem modular o sistema imune com através da ação da citocina IL-10, que contribui para uma diminuição da resposta Th2 (Araújo e cols., 2004).

A alergia é uma reação de hipersensibilidade iniciada por mecanismos imunológicos que pode ser mediado por células ou anticorpos. A reação de hipersensibilidade tipo I (ou imediata) é mediada por imunoglobulina da classe E (IgE), mastócitos e eosinófilos. Quando o indivíduo tem predisposição genética a reagir a antígenos ambientais inócuos para a população em geral (alérgenos), produzindo IgE específica para estes alérgenos, ele é denominado atópico (Johansson e cols., 2004). Para que a IgE antígeno específica seja produzida, é necessário que o alérgeno entre no organismo e seja apresentado através da via MHC classe II das células apresentadoras de antígeno aos linfócitos T virgens. Uma vez estimulado, o linfócito T virgem se ativa e começa a produzir citocinas tipo Th2 como a interleucina 4 (IL-4) e IL-13, sendo a IL-4 a principal citocina relacionada com a produção da IgE. Estas citocinas, após se ligarem aos seus receptores específicos, desencadeiam uma cascata de sinalização intracelular no linfócito B inativo, que induz mudança no isotipo de imunoglobulina de IgG/IgD (cadeias pesadas gama e delta respectivamente) para IgE (cadeia épsilon), através de rearranjo gênico, e diferenciação para plasmócito (Geha e cols., 2003). Esta IgE específica para o alérgeno se liga nos receptores da cadeia  $\epsilon$  de alta afinidade (Fc $\epsilon$  RI) presente principalmente em mastócitos, basófilos e eosinófilos, sensibilizando estas células. Uma vez ocorrida a sensibilização, em um segundo contato com o alérgeno, este se liga a duas IgEs específicas adjacentes com afinidade para o mesmo alérgeno, ligadas aos Fc $\epsilon$  RI, desencadeando uma cascata de reações intracelulares que culmina com a liberação de mediadores inflamatórios pré-formados e sintetizados “de novo” que levam aos sintomas alérgicos observados na fase precoce da reação de hipersensibilidade tipo I (Janeway, 2002; Abbas, 2005).

Entre os mediadores inflamatórios liberados pelos mastócitos na fase imediata, estão histamina, proteases e citocinas. A histamina age nos seus receptores específicos nos diferentes tecidos. No endotélio, provoca a contração celular aumentando a permeabilidade vascular. Na musculatura lisa intestinal e brônquica, a histamina age provocando contração, elevando a peristalse e o broncoespasmo, respectivamente. As proteases neutras da serina, como a tripsina e quimase, são enzimas que agem provocando dano tecidual. A liberação de TNF- $\alpha$ , armazenada nos grânulos pré-formados destas células, contribui para ativação das células endoteliais, aumentando a expressão de moléculas de adesão e promovendo o influxo de leucócitos para o tecido (Janeway, 2002; Abbas, 2005). Na fase tardia da reação de hipersensibilidade os mastócitos sintetizam quimiocinas (p.ex.: MIP-1 $\alpha$ ), mediadores lipídicos (p.ex.; leucotrienos, prostaglandinas e o fator ativador de plaquetas) e citocinas (p.ex.: IL-4 e IL-13). Os leucotrienos se aderem a receptores específicos nas células da musculatura lisa, provocando broncoconstricção prolongada, secreção de muco e aumento da permeabilidade vascular. As prostaglandinas atuam como vasodilatadores, broncoconstritores e promovem quimiotaxia de neutrófilos. O fator ativador de plaquetas atua na quimiotaxia e ativação de leucócitos, broncoconstricção e aumento da permeabilidade vascular (Janeway, 2002; Abbas, 2005). As citocinas produzidas por ativação dos mastócitos auxiliam a manter a reação inflamatória, a IL-4 promove a diferenciação de linfócitos T virgens para Th2, a IL-5 promove a ativação e produção de eosinófilos, o TNF- $\alpha$  e MIP-1 $\alpha$  estimulam a quimiotaxia de células mononucleares e polimorfonucleares. Estas reações têm como consequência o acúmulo dos leucócitos inflamatórios, principalmente eosinófilos e linfócitos Th2, devido à liberação dos mediadores sintetizados “de novo” (Janeway, 2002; Abbas, 2005).

Para se desenvolver uma reação de hipersensibilidade tipo I, que é característica das doenças alérgicas, é necessário que o indivíduo tenha contato com o alérgeno em concentrações suficientes para se tornar sensibilizado. É recomendado o controle dos alérgenos ambientais nos domicílios para se diminuir o excesso de exposição aos alérgenos que contribuem para essa sensibilização (Arshad e cols., 2002) e, em uma fase posterior, o desenvolvimento das manifestações alérgicas (Morgan e cols., 2004).

Tão importante para o desenvolvimento de alergia quanto a exposição ao alérgeno é o “background” genético do indivíduo, onde genes situados em diferentes cromossomos podem

determinar o desenvolvimento de atopia. Estudos com famílias atópicas identificaram *loci* gênicos com genes passíveis de afetar a resposta mediada por IgE e, conseqüentemente a atopia (Cookson e cols., 1999; Janeway, 2002). Alguns estudos mostram que crianças de pais atópicos e/ou asmáticos estão mais susceptíveis a sensibilização aos alérgenos do que crianças de pais não atópicos e não asmáticos, verificando assim a existência de um componente genético ligado à alergia (Crestani e cols., 2004).

## 1.2 Alérgenos domiciliares

No final do século XX, o estilo de vida das pessoas que viviam no mundo ocidental havia mudado e a maioria das pessoas passaram a ficar muitas horas por dia em ambientes fechados. Houve também mudança nas características dos domicílios, que se tornaram mais confortáveis com carpetes, sofás e outros fatores facilitadores do acúmulo de alérgenos, aumentando o contato das pessoas com estes (Platts-Mills & de Weck, 1989).

As primeiras evidências da associação de alérgenos da poeira domiciliar com a alergia foram feitas na década de 1920, quando indivíduos portadores de alergia reagiram positivamente a testes de puntura cutâneo (TPC) feitos usando extratos de poeira de suas próprias casas (Spivacke e cols., 1924). Em meados de 1960, Voorhost e cols., identificaram o gênero *Dermathopagoides* como uma das principais fontes de alérgeno em pessoas atópicas a poeira, mostrando assim a importância dos ácaros de poeira doméstica na sensibilização de indivíduos alérgicos (Voorhost e cols., 1967). Em alguns lugares onde não existem condições favoráveis ao crescimento dos ácaros, outras fontes de alérgenos domiciliares, como pólen, epitélio de animais domésticos e baratas, são importantes para a sensibilização da população regional (Sporik e cols., 1995; Platts-Mills & de Weck, 1989). Em alguns países, o perfil de sensibilização em função do nível de exposição parece obedecer a determinados padrões, ocorrendo um aumento da prevalência de sensibilização aos alérgenos de ácaros em concentrações maiores de forma dose-dependente e um aumento na sensibilização para os alérgenos de animais domésticos em concentrações moderadas (Custovic e cols., 2003; Figura 2).

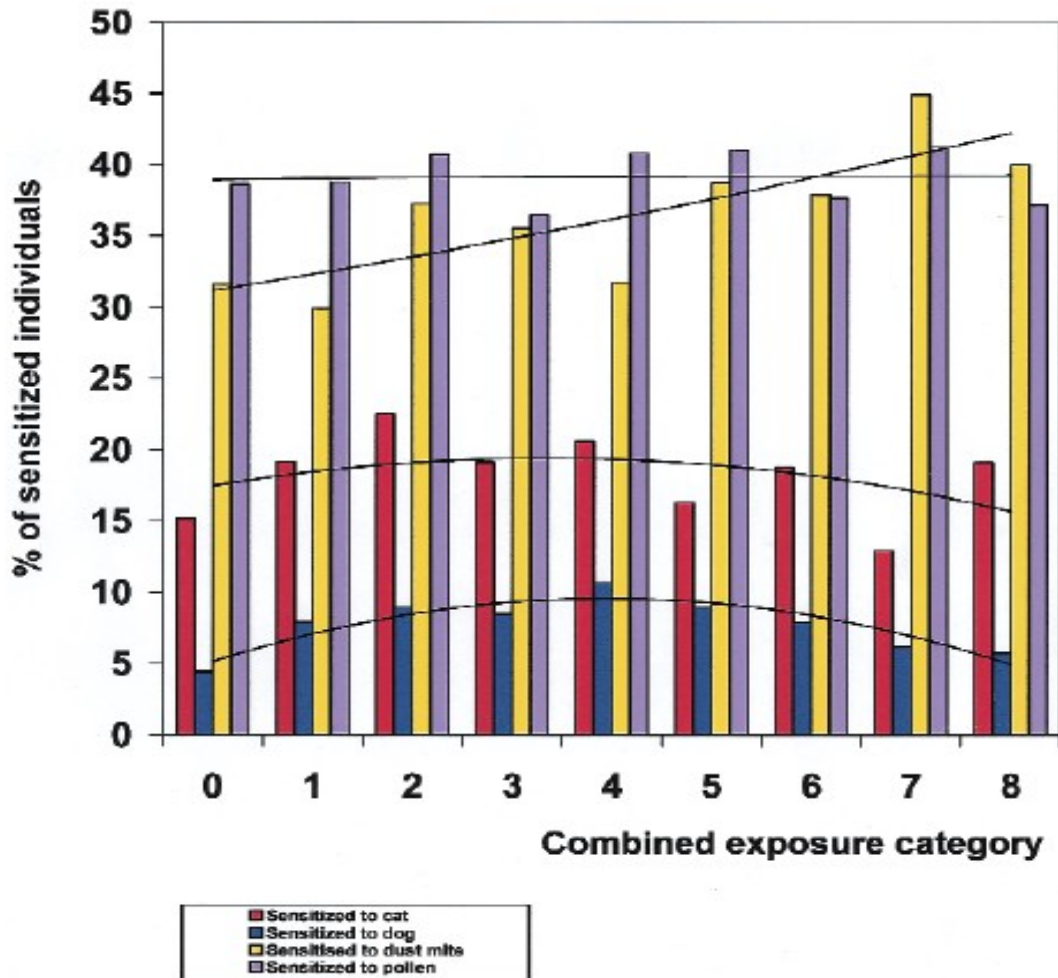


Figura 2 – Prevalência de sensibilização aos alérgenos específicos para os níveis de exposição categorizados aos respectivos alérgenos (Custovic e cols., 2003)

### 1.2.1 Ácaros de poeira e seus alérgenos

Os ácaros de poeira doméstica são artrópodes da classe Arachnida, da ordem Acari, e subordem Astigmata. Os ácaros são seres aeróbicos, trocam o oxigênio por gás carbônico via superfície corporal, se alimentam principalmente de escamas da pele humana e de animais e de outros detritos orgânicos disponíveis nas residências. Entre as espécies de ácaros mais comumente encontrados em poeira doméstica estão o *Dermatophagoides pteronyssinus* e o *D. farinae*, da família *Pyroglyphidae*, encontrados principalmente em regiões de clima temperado, porém considerados cosmopolitas. Em regiões de clima tropical, a espécie *Blomia tropicalis*, da família *Glycyphagidae*, ocorre concomitantemente com o *D. pteronyssinus* e outros membros da família *Pyroglyphidae* e estão entre os ácaros mais encontrados nas poeiras

dos domicílios (Arlian & Platts-Mills, 2001).

Diversos estudos realizados em diferentes países investigaram a exposição aos alérgenos de ácaros e sua associação com alergia e asma (Platts-Mills & de Weck, 1989). Alguns destes, realizados principalmente em países industrializados, mostraram a existência de uma associação tipo dose-resposta entre exposição a alérgenos de ácaros e sensibilização por estes alérgenos (Lau e cols., 1989; Kuehr e cols., 1994; Custovic e cols., 2003; Nicolaou e cols., 2006) e também entre exposição e desencadeamento de sintomas alérgicos (Sporik e cols., 1990; Peat e cols., 1996; Sporik e cols., 1999; Huang e cols., 2001; Matheson e cols., 2005; Celledon e cols., 2007). Em Workshops Internacionais promovidos pela Associação Internacional de Alergologia e Imunologia Clínica (“International Association of Allergology and Clinical Immunology”) foram definidas concentrações de 2,0  $\mu$  g/g e 10,0  $\mu$  g/g de alérgenos de ácaros do grupo 1 como pontos de corte para ocorrência de sensibilização e desencadeamento de sintomas alérgicos, respectivamente. (Platts-Mills & de Weck., 1989, Platts-Mills e cols., 1992; 1997). Entretanto, outros estudos realizados em países do 1º Mundo (Vervloet e cols., 1999; Lau e cols., 2000) e em países do 3º Mundo (Câmara e cols., 2003; Baqueiro e cols., 2007) não demonstraram associação entre concentrações de alérgenos e risco de sensibilização e de manifestações de alergia nos pontos de corte definidos na literatura.

A concentração de alérgenos provenientes de ácaros está diretamente correlacionada com o número de ácaros. Sendo assim, os fatores que influenciam o ciclo de vida, o crescimento e reprodução destes aracnídeos interferem conseqüentemente na quantidade do alérgeno exposto no ambiente. As medidas de exposição aos ácaros são feitas principalmente através da observação direta do ácaro por microscopia em amostra de poeira, após separação por flotação, ou por quantificação de seus alérgenos em imunoenaios (ELISA) de captura, utilizando “kits” obtidos comercialmente. Nestes ensaios, se utilizam anticorpos monoclonais anti-alérgeno para sensibilizar as placas e um segundo anticorpo monoclonal anti-outro epítipo do mesmo alérgeno, conjugado a enzimas, para revelação do ensaio. A quantificação é realizada com o uso de uma curva com várias concentrações de um antígeno recombinante colocado concomitantemente com as amostras no ensaio. Existe uma correlação entre a contagem dos ácaros e a concentração de determinado alérgeno, medida por imunoensaio.



Considera-se que 2,0  $\mu$  g/g de poeira de um alérgeno de ácaro corresponde a uma contagem de aproximadamente 100 ácaros por grama de poeira, e que 10,0  $\mu$  g/g corresponde a 500 ácaros por grama de poeira (Platts-Mills & de Weck, 1989; Medeiros-Júnior e cols., 2002).

#### 1.2.1.1 **Der p 1**

O principal alérgeno do ácaro *D. pteroyssinus* é o alérgeno 1, chamado de Der p 1. Os alérgenos do grupo I (Der p 1, Der f 1 e Der m 1) são glicoproteínas lábeis ao calor, excretadas em suas fezes. O alérgeno Der p 1 tem peso molecular de 25 kDa e é uma enzima do trato digestivo do ácaro com função de protease de cisteína (Platts-Mills & de Weck., 1989). A função biológica deste alérgeno parece ter uma relação com a resposta de IgE e seus efeitos pró-inflamatórios, entre estes, o de clivar receptores para IgE de baixa afinidade (CD23) em linfócitos B, basófilos, eosinófilos e células dendríticas. No linfócito B, pode agir impedindo um possível “feedback” negativo na síntese da IgE, quando esta se liga ao CD23. Também pode clivar o CD40 e diminuir a expressão de IL-12 nas células dendríticas, clivar a subunidade  $\alpha$  do receptor de IL-2 (CD25) nos linfócitos T, diminuindo sua proliferação e produção de IFN- $\gamma$ , assim como induzir o aumento da produção de IL-4, desviando a resposta imune para Th2. No caso da asma, seu efeito enzimático pode ser sinérgico à produção de IgE e agir diretamente no epitélio bronquial, promovendo inflamação nas vias aéreas (Schulz e cols., 1999; Asonikanthan e cols., 2001; Arlian & Platts-Mills, 2001; Ghaemmaghami e cols., 2002; Sharma e cols., 2003).

#### 1.2.1.2 **Blo t 5**

O ácaro *B. tropicalis* (Figura 3) é uma importante fonte de alérgeno domiciliar nas regiões tropicais (Fernandez-Caldas e cols., 1993; Serravalle & Medeiros-Júnior, 1999; Fernandes e cols., 2005, Baqueiro e cols., 2006). Sua freqüência nestas regiões tem como consequência uma alta prevalência de sensibilização para este ácaro (Ferrandiz e cols., 1996; Arruda e cols., 1997; Sarinho e cols., 2000; Tsai e cols., 2003; Yeoh e cols., 2003).

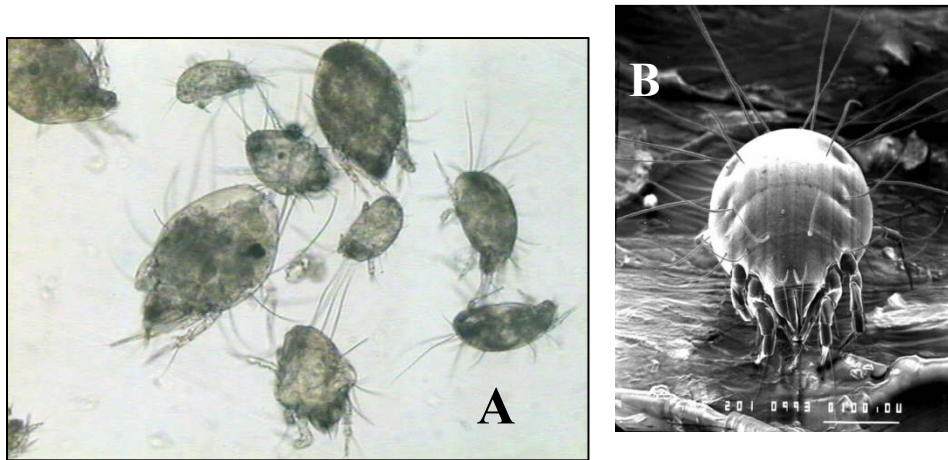


Figura 3 – A) *B. tropicalis* em cultura feita no Laboratório de Alergia e Acarologia – UFBA (Retirado de: Jesus, J.R., 2006) B) Vista frontal do *Blomia tropicalis* aumentado 200 vezes. (Retirado de: Fernandez-Caldaz & Lockey, 2004).

O alérgeno Blo t 5 é uma proteína de 14 kDa, considerado como o alérgeno imunodominante presente nos extratos puros de *B. tropicalis* (Tsai e cols., 1998; Montealegre e cols., 2006). Apesar de ter homologia com o alérgeno Der p 5, derivado do *D. pteronyssinus*, estudos com soros de pacientes alérgicos indicam que a reatividade cruzada entre os dois alérgenos para IgE específica é baixa e que o alérgeno Blo t 5 é espécie-específico (Kuo e cols., 2003). Não se conhece até o momento a função biológica deste alérgeno (Yi e cols., 2006).

### 1.2.2 Alérgenos de animais domésticos

Os principais alérgenos de animais domésticos são derivados de cães e gatos. Estes diferem de outros alérgenos domiciliares principalmente por sua permanência prolongada no ambiente e por serem carregados por flocos de pêlos para diversos ambientes, sendo encontrados até mesmo em locais sem a presença destes animais (Murray e cols., 2001; Custovic e cols., 2003).

O alérgeno Fel d 1 (alérgeno 1 da espécie *Felis domesticus*) e o alérgeno Can f 1 (alérgeno 1 da espécie *Canis familiaris*) são os mais estudados. O Fel d 1 é uma glicoproteína tetramérica da família das secretoglobinas, homóloga à uteroglobina, sendo formada por dois heterodímeros, tendo aproximadamente 35 kDa de peso molecular. O Fel d 1 é produzido pelas glândulas sebáceas e células epiteliais escamosas, além de outras glândulas como

lacrimal e salivar, sendo transferido da saliva para os pêlos através do hábito destes animais de se lambe para limpeza (Kaiser e cols., 2003; Chapman e cols., 2007). O alérgeno Can f 1 é uma proteína com peso molecular entre 21-25 kDa e faz parte da família de proteínas chamadas lipocalinas e apresenta um motivo funcional de um inibidor de protease de cisteína (Chapman e cols., 2007).

Em países de clima frio ou regiões onde os animais domésticos são criados e mantidos predominantemente dentro de casa, ou ainda em lugares onde é baixa a exposição aos alérgenos de ácaros devido ao clima local, a exposição aos alérgenos de animais domésticos pode desempenhar um importante fator de risco para sensibilização com estes alérgenos e a exposição aos mesmos pode desencadear sintomas de asma em pessoas sensibilizadas (Ingram e cols., 1995; Wahn e cols., 1997; Lindfors e cols., 1999). Entretanto, esta associação ainda não está bem definida, visto que alguns estudos não mostram associação entre exposição aos alérgenos de animais domésticos e sensibilização (Liccardi e cols., 2005). Outros estudos mostraram que eles estão associados negativamente com atopia e alergia (Nafstad e cols., 2001; Litonjua e cols., 2002).

### **1.2.3 Alérgenos de baratas**

As espécies de baratas mais conhecidas como sendo fonte de alérgenos são *Blattella germanica* e *Periplaneta americana* (Platts-Mills, 1998). Estudos mostram que a exposição aos alérgenos de baratas pode estar associada à sensibilização (Santos e cols., 1999; Sporik e cols., 1999; Huss e cols., 2001; Gruchalla e cols., 2005) e ao desencadeamento de sintomas alérgicos (Litonjua e cols., 2001, 2002; Gruchalla e cols., 2005).

Os principais alérgenos de *B. germanica* são Bla g 1 e Bla g 2. O alérgeno Bla g 2 é uma glicoproteína com peso molecular de 36 kDa, homóloga à família de proteína das proteases aspárticas, porém com função inativa devido a substituições dos aminoácidos no sítio catalítico (Chapman e cols., 2007).

Neste trabalho foram determinadas as concentrações dos alérgenos Der p 1, Blo t 5, Can f 1, Fel d 1 e Bla g 2 em poeira de leitos de 1190 crianças acompanhadas em uma coorte

para estudo de fatores de risco e proteção de asma e alergias em Salvador, Bahia do programa SCAALA (ver Barreto e cols. 2006 para detalhes). Estes dados foram associados à presença de atopia e asma nesta população. Espera-se com isto contribuir para o conhecimento do papel dos alérgenos da poeira no desencadeamento de atopia e alergia em crianças de países em desenvolvimento.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Investigar a associação entre a exposição aos aeroalérgenos de ambientes domiciliares e a reatividade ao teste de puntura cutâneo, a IgE específica para alérgenos e a asma em crianças de Salvador, Bahia.

### 2.2 Objetivos específicos

Objetivos específicos do trabalho:

- a) determinar a prevalência de asma na população estudada;
- b) determinar a prevalência de atopia, baseada na sensibilização cutânea aos extratos de ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*), animais domésticos (*C. familiaris* e *F. domesticus*) e barata (*Blatella germanica*) e na presença de IgEs séricas anti-*B. tropicalis*, anti-*D. pteronyssinus*, anti-*B. germanica* e anti-*P. americana*;
- c) determinar a frequência dos principais alérgenos provenientes de ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 1) e *Blomia tropicalis* (Blo t 5), de epitélio de cão (*Canis familiaris*; Can f 1) e gato (*Felis domesticus*; Fel d 1) e da barata *Blatella germânica* (Bla g 2) nos leitos das crianças estudadas;
- d) investigar possíveis associações entre atopia, asma e níveis de alérgenos nos leitos das crianças.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 População do estudo e coleta dos dados do questionário

As crianças participantes deste projeto participaram anteriormente de um estudo longitudinal para avaliar o impacto de programas de saneamento na ocorrência de episódios de diarreia em crianças de até 3 anos na cidade de Salvador, Bahia, sendo recrutadas de 24 diferentes pequenas áreas geográficas da cidade, selecionadas para representar uma população de áreas que seriam saneadas. O estudo atual faz parte do programa SCAALA, um programa de estudo de asma e alergias na América Latina (Barreto e cols., 2006).

Este trabalho é um estudo de corte transversal, realizado em 1445 crianças de 4 a 12 anos, onde foi aplicado um questionário ISAAC fase II modificado traduzido para português e validado, que foi respondido pelos pais ou responsáveis, para coletar informações sobre história de asma e doenças alérgicas e de fatores de risco e proteção para estas enfermidades. Foram incluídas neste questionário perguntas sobre ambiente e condições da moradia e outros potenciais fatores de risco para asma e alergias. Foram utilizadas duas definições de asma baseadas no questionário: a. a primeira definição (definição 1) define asma como a presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança; b. a segunda definição (definição 2) define asma como a presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança associada a algum dos fatores a seguir: asma alguma vez na vida; sibilos com exercícios; quatro ou mais episódios de sibilos nos últimos 12 meses; ter acordado por causa do sibilo nos últimos 12 meses. A variável asma nos pais foi definida como resposta positiva à pergunta se o pai ou a mãe da criança tiveram asma. A variável atopia foi definida como um resultado positivo para o teste de puntura cutâneo para qualquer um dos alérgenos testados (cujas médias da reação foram pelo menos 4 mm maiores que a média do controle negativo) ou para a dosagem da IgE sérica específica para qualquer alérgeno testado (concentrações iguais ou maiores que 0,35 kU/L). A variável atopia específica foi definida como um resultado positivo para o teste de puntura cutâneo para o alérgeno específico (cujas médias da reação foram pelo menos 4 mm maiores que a média do controle negativo) ou para a dosagem da IgE sérica específica para o alérgeno (concentrações iguais ou maiores que 0,35 kU/L). A variável asma atópica foi definida associando a definição 2 de asma com a definição de atopia ou de atopia específica.

Das 1445 crianças estudadas, apenas 1190 atenderam o critério de inclusão neste trabalho, que foi não ter dados perdidos para nenhuma das variáveis estudadas.

### 3.2 Teste de puntura cutâneo

O teste de puntura cutâneo (TPC) foi realizado utilizando extratos de *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *B. germanica*, *Periplaneta americana*, epitélio de cão e epitélio de gato e mistura de fungos (*Aspergillus amstelodami*, *A. fumigatus*, *A. niger* e *A. terreus*, *Penicillium brevicompactum*, *P. expansum*, *P. notatum* e *P. roqueforti*, *Cladosporium fulvum* e *C. herbarum*) da ALK (ALK-Abelló, São Paulo, Brasil). Os extratos foram introduzidos através de puntura cutânea no antebraço direito de cada criança, sendo utilizada uma lanceta de aço inoxidável, calibrada, estéril, com precisão de 0,016mL (ALK-Lancet®, ALK-Abelló, São Paulo, Brasil). Foram utilizadas salina e histamina a 10,0 mg/mL (ALK-Abelló, São Paulo, Brasil) como controles negativo e positivo, respectivamente. O diâmetro da reação foi medido após 15 minutos e o resultado foi obtido como a média dos dois maiores diâmetros perpendiculares da reação pápulo-eritematosa, expressa em milímetros (mm). Foram considerados positivos os testes cujas médias foram pelo menos 3 mm maiores que a média do controle negativo. Os casos em que não houve reação ao controle positivo foram excluídos das análises.

### 3.3 Determinação de IgE específica

Foi obtida uma amostra de sangue periférico das crianças do estudo para determinação de IgE específica para os alérgenos *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *B. germanica* e *P. americana*. A análise foi realizada através do sistema Unicap (Phadia, Uppsala, Suécia), seguindo as instruções do fabricante. Resultados maiores que 0,35 kU/L para qualquer dos alérgenos testados foram considerados indicativos de sensibilização.

### 3.4 Coleta, armazenamento das amostras de poeira e dados ambientais

As amostras de poeira foram coletadas usando um aspirador de pó profissional (Eletrolux Professional, 1220 Watts) contendo um filtro de poliestireno com poros de 25

micrometros de tamanho. Os leitos das crianças foram aspirados por 2 minutos, em uma área de 1 metro quadrado, adjacente ao lado onde a criança repousa a cabeça ao dormir (Baqueiro e cols., 2006). As amostras de poeira foram coletadas entre julho e outubro de 2005, sendo feita uma visita nos domicílios e retirada uma amostra única de poeira do leito. Os filtros foram pesados antes e após a coleta de poeira. Fibras e partículas grandes foram retiradas das poeiras com pinça e as poeiras finas foram pesadas, alíquotadas em amostras de 100 miligramas (mg) e criopreservadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o uso. As alíquotas foram diluídas em 1 mL de solução salina fosfatada, pH 7,4 (PBS) contendo 0,1% de azida (PBS/Azida) e homogeneizadas por 2 horas na temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi centrifugada por 20 minutos a 2500 g, na temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ . Seiscentos microlitros ( $\mu\text{L}$ ) do sobrenadante foram acrescentados a um volume igual ( $600\mu\text{L}$ ) de glicerina e esta solução foi conservada à  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso.

### 3.5 Dosagem dos alérgenos na poeira

As concentrações dos aeroalérgenos das amostras de poeiras foram determinadas pelo método de ELISA de captura, com “kits” obtidos comercialmente (Indoor Biotechnologies, Virginia, USA) contendo anticorpos monoclonais para os seguintes aeroalérgenos: Blo t 5 de *B. tropicalis*; Der p 1 de *D. pteronyssinus*; Bla g 2 de *B. germanica*; Fel d 1 de *F. domesticus* e Can f 1 de *Canis familiaris*, de acordo com as instruções do fabricante. Os ensaios foram realizados em placa de microtitulação (COSTAR 3590, Flat Bottom, No Lid, Polystyrene, Cambridge, MA, EUA). Os poços foram sensibilizados com  $100\mu\text{L}$ /poço dos anticorpos monoclonais anti-Blo t 5 (4G9), anti-Der p 1 (5H8), anti-Fel d 1 (6F9), anti-Can f 1 (6E9) e anti-Bla g 2 (7C11) para os alérgenos acima citados, e diluídos no tampão carbonato-bicarbonato 50 mM, pH 9.6. As placas foram incubadas em câmara úmida por 12 horas, a  $4^{\circ}\text{C}$  e em seguida lavadas 3 vezes com tampão PBS contendo 0,05% de Tween 20 – PBS-T (SIGMA Chemical co., São Luis, MO, EUA), este tampão foi utilizado para todas as etapas de lavagens deste ensaio. O bloqueio de reações inespecíficas foi realizado com PBS contendo 0,05% de Tween 20 e 1,0% de albumina bovina (PBS/T/BSA), sendo as placas incubadas em câmara úmida por 1 hora à temperatura ambiente. Após as lavagens, foram acrescentados  $100\mu\text{L}$ /poço das alíquotas de poeira tratadas como referido acima, diluídas a 1:10 em PBS/T/BSA. A seguir, as placas foram incubadas em câmara úmida, por 1 hora à



temperatura ambiente. O tampão PBS/T/BSA foi utilizado para diluir os conjugados usados no ensaio. O processo de revelação diferiu para os alérgenos: (a) para Blo t 5, Der p 1 e Can f 1 a reação foi revelada com a adição de 100µ L/poço dos anticorpos monoclonais biotinizados contra os respectivos alérgenos, na diluição de 1:1000. Após 3 lavagens com PBS-T, foi adicionada estreptavidina-peroxidase (SIGMA Chemical co., São Luis, MO, EUA) na diluição 1:1000; (b) para os alérgenos Bla g 2 e Can f 1 foi utilizado respectivamente como primeiro conjugado 100µ L/poço dos anticorpos policlonais anti-Bla g 2 e anti Can-f 1, feitos em coelho, na diluição de 1:1000. A seguir foi acrescentado 100µ L/poço do segundo conjugado, anticorpo de cabra anti-IgG de coelho ligado a peroxidase, na diluição 1:1000 (DAKO A/S, Glostrup, Dinamarca). As reações foram reveladas com 100µ L/poço de 1,0 mM de ABTS, [2,2-azino-di-(3 ethylbenzthiazoline sulfonic acid) ]; (SIGMA Chemical co, São Luis, MO, EUA), em tampão citrato-fosfato, pH 4,2 e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) à 30%, na diluição de 1:1000. A leitura das densidades óticas foi feita em leitor de ELISA (Biotek ELx800, Biotek Instruments Inc., Winnoski, VT, USA), utilizando-se filtros de 405nm. Curvas padrões dos alérgenos provenientes dos “kits” foram utilizadas para a conversão das densidades óticas dos alérgenos contidos nas poeiras amostradas em concentrações, e os resultados foram expressos em microgramas por grama de poeira (µ g/g).

### **3.6 Exame Parasitológico de Fezes**

Duas amostras de fezes foram coletadas para análise de helmintos e protozoários com intervalo de 3 a 7 dias. As fezes foram analisadas utilizando a técnica de sedimentação espontânea de Hoffman, Pons e Janner (Hoffman e cols., 1934) para detectar ovos de helmintos, cistos e oocistos de protozoários. Duas lâminas foram examinadas de cada amostra. A quantificação dos ovos foi feita pela técnica de Kato-Katz (Katz, 1972). A criança foi considerada infectada por determinado helminto quando apresentou resultado positivo para o mesmo, em qualquer amostra submetida aos dois métodos utilizados.

### 3.7 Análise estatística

As concentrações dos alérgenos foram expressas em micrograma por grama de poeira fina. Os dados foram categorizados de acordo com a leitura de densidade óptica e o resultado dado pela curva de concentração. O grupo onde a densidade óptica foi abaixo do branco da placa de ELISA, onde havia somente os reagentes e não havia amostra, foi considerado como não exposto aos alérgenos; o grupo que obteve resultados de densidade óptica entre o controle negativo e o limite de detecção inferior da curva de concentração (usando o método de 4 parâmetros logísticos; 4PL) foi considerado como tendo concentrações de alérgenos equivalente à metade dos valores do limite de detecção inferior da curva. O grupo com resultados acima do limite superior da curva de concentração, foi considerado como o maior valor do limite da curva.

Para análise da frequência dos alérgenos Der p 1, Blo t 5, Can f 1 e Fel d 1, além da determinação da concentração do alérgeno na poeira, foram utilizados três pontos de corte para estudo de associação entre os respectivos alérgenos com atopia e alergia: a. pontos de corte para sensibilização (ponto de corte baixo); b. pontos de corte para desencadeamento de sintomas (ponto de corte alto); c. pontos de corte arbitrários, com valores médios entre os outros pontos de corte (ponto de corte médio). Os pontos de corte baixo e alto foram obtidos de publicações e variaram de alérgeno para alérgeno (ver Tabela 1). Para o alérgeno Blo t 5, por não haver uma definição, foram utilizados os pontos de corte para o alérgeno Der p 1. Para associar o risco de sensibilização e asma com a exposição aos alérgenos foi usada a regressão logística bivariada, sendo utilizadas três categorias de exposição aos alérgenos Der p 1, Blo t 5, Can f 1 e Fel d 1: a. categoria de não expostos; b. da concentração zero até a utilizada como referência na literatura internacional como pontos de corte para sensibilização; c. valores acima dos pontos de corte para sensibilização. A análise multivariada foi feita usando a regressão logística múltipla, ajustando a análise com as variáveis confundidoras para atopia ou asma.

As análises foram realizadas utilizando o software estatístico SPSS (“Statistical Package for the Social Sciences program”) versão 13.

**Tabela 1 – Referências da literatura dos pontos de corte baixo e alto para os aeroalérgenos estudados**

<b>Alérgenos</b>	<b>Pontos de corte (em <math>\mu</math> g/g do alérgeno na poeira)</b>		<b>Referências</b>
	<b>Baixo</b>	<b>Alto</b>	
Der p 1	2,0	10,0	Lau e cols.; 1989; Sporick e cols., 1990; Huss e cols., 2000; Câmara e cols., 2003; Celledon e cols.; 2007; Salo e cols.; 2008
Can f 1	2,0	10,0	Ingram e cols.; 1995; Nasfád e cols., 2001; Belanger e cols., 2002; Gruchalla e cols., 2005; Salo e cols., 2008
Fel d 1	1,0		Gold e cols., 1999; Nasfád e cols., 2001; Belanger e cols.; Celledon e cols., 2002;

### **3.8 Considerações éticas**

A aprovação ética foi obtida do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia em 2005. Todos os pais ou responsáveis assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, com detalhes de todos os processos do decorrer do projeto.

#### 4 RESULTADOS

Das 1445 crianças registradas no SCAALA, 1190 tinham dados completos, sendo selecionadas para o estudo aqui descrito. Não houve diferenças entre a população excluída e a população analisada em relação às variáveis estudadas (dados não mostrados). Estas crianças tinham entre 4 e 12 anos de idade, com média de 7,25 anos. Quanto ao gênero, 54,2% foram do sexo masculino e 45,8% do sexo feminino. Das crianças, 16,4% freqüentaram ou freqüentam creches. A infecção por helmintos foi detectada em 33,4% das crianças. Entre crianças estudadas, 13,0% dos pais tinham asma, entre as crianças atópicas 13,4% dos pais eram asmáticos e entre as crianças asmáticas 20,4% dos pais eram asmáticos; 54,3% das mães tinham escolaridade primária ou 1º grau completo e 45,7 tinham 2º grau ou curso superior. Em 27,4% das casas das crianças havia um ou mais fumantes. Quanto ao número de cômodos nas residências, 15,5% tinham entre 1 e 2, 59,2% tinham 3 ou 4 e 25,2% tinham 5 ou mais cômodos (Tabela 2).

**Tabela 2 – Características da população estudada**

<b>Variáveis de Estudo</b> <b>N=1190</b>	<b>Frequências</b> <b>n (%)</b>
<b>Gênero</b>	
Feminino	545 (45,8)
Masculino	645 (54,2)
<b>Idade (anos)</b>	
Média (Desvio Padrão)	7,25 (± 1,65)
<b>Frequente ou frequentou creche</b>	
Não	995 (83,6)
Sim	195 (16,4)
<b>Infecção por helmintos</b>	
Não	793 (66,6)
Sim	397 (33,4)
<b>Asma nos pais</b>	
Não	1035 (87,0)
Sim	155 (13,0)
<b>Escolaridade da mãe</b>	
Primário	257 (21,6)
1º grau	389 (32,7)
2º grau ou superior	544 (45,7)
<b>Fumantes na casa atualmente</b>	
Não	864 (72,6)
Sim	326 (27,4)
<b>Número de cômodos na casa</b>	
Até 2	185 (15,5)
3 ou 4	705 (59,2)
5 ou mais	300 (25,2)

A prevalência de reatividade ao teste de puntura cutâneo (TPC) para todos os alérgenos na população estudada foi de 30,3%, sendo que a maior prevalência foi para o ácaro *B. tropicalis* (21,8%), seguida de 16,0% para *D. pteronyssinus*, 13,7% para *P. americana* e 7,8% para *B. germanica*. Para epitélio de cão e gato houve reatividade ao TPC em 1,0% e 0,8% das crianças, respectivamente, e para fungos em apenas 0,4%. A presença nas crianças de IgE específica acima de 0,35 kU/L para os alérgenos estudados foi de 50,0% sendo, 44,5%, 28,7%, 21,5% e 14,8% para os alérgenos *B. tropicalis*, *D. pteronyssinus*, *B. germanica* e *P. americana*, respectivamente. A prevalência de asma usando a definição 1 (sibilos nos últimos 12 meses) foi de 28,9%, enquanto que usando a definição 2 (sibilos nos últimos 12 meses e outros fatores descritos em Materiais e Métodos) foi de 22,6% sendo que, deste valor, havia uma maior prevalência de crianças com asma atópica (13,3%) do que com asma não atópica (9,3%; Tabela 3).

**Tabela 3 – Prevalências de atopia e asma nas crianças 1190 estudadas, Salvador, 2005**

<b>Variáveis estudadas N=1190</b>	<b>Frequências n (%)</b>
<b>Teste de puntura cutâneo (≥ 3mm do controle negativo)</b>	
≥ 1 alérgeno	361 (30,3)
<i>B. tropicalis</i>	260 (21,8)
<i>D. pteronyssinus</i>	190 (16,0)
<i>P. americana</i>	163 (13,7)
<i>B. germanica</i>	93 (7,8)
Epitélio de Cão	12 (1,0)
Epitélio de Gato	10 (0,8)
Fungos	5 (0,4)
<b>IgE sérica (≥ 0,35 kU/L)</b>	
≥ 1 alérgeno	595 (50,0)
<i>B. tropicalis</i>	529 (44,5)
<i>D. pteronyssinus</i>	341 (28,7)
<i>B. germanica</i>	256 (21,5)
<i>P. americana</i>	176 (14,8)
<b>Sintomas de asma</b>	
Asma – Sibilos nos últimos 12 meses (definição 1)	344 (28,9)
Asma - Sibilos nos últimos 12 meses + *outras variáveis (definição 2)	269 (22,6)
Asma não atópica (Definição 2)	111 (9,3)
Asma atópica** (Definição 2)	158 (13,3)

\*Outras variáveis incluem ter asma alguma vez na vida; sibilos com exercícios; quatro ou mais episódios de sibilos nos últimos 12 meses; ter acordado por causa do sibilo nos últimos 12 meses. \*\*Atopia definida por teste de puntura cutâneo com a média do diâmetro da reação maior ou igual a 4 milímetros da média do controle negativo ou IgE sérica específica para os alérgenos maior ou igual a 0,35 kU/L.

Entre os alérgenos estudados, Der p 1 estava presente em 89,2% das poeiras dos leitos, Can f 1, Fel d 1, Blo t 5 e Bla g 2 foram detectados em 78,0%, 75,0%, 58,2% e 24,1% das poeiras, respectivamente. A distribuição dos alérgenos Der p 1, Can f 1 e Fel d 1 e Blo t 5 foram respectivamente de 23,0%, 13,4%, 13,1% e 7,7% de positividade considerando o ponto de corte baixo (2,0  $\mu$  g/g de poeira para Der p 1, Blo t 5 e Can f 1; 1,0  $\mu$  g/g para Fel d 1), 7,7%, 6,9%, 4,5% e 1,8%, para o ponto de corte médio (5,0  $\mu$  g/g de poeira para Der p 1, Blo t 5 e Can f 1 e 4,0  $\mu$  g/g para Fel d 1) e 3,4%, 3,4%, 0,0% e 0,5% para o ponto de corte alto (10,0  $\mu$  g/g para Der p 1, Blo t 5 e Can f 1; Tabela 4).

**Tabela 4 – Frequência dos alérgenos das poeiras nos leitos das 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005**

<b>Alérgenos N=1190</b>	<b>Níveis detectáveis (<math>\mu</math> g/g de poeira)</b>	<b>n (%)</b>
Der p 1	0,38	1061 (89,2)
Can f 1	0,38	928 (78,0)
Fel d 1	0,12	892 (75,0)
Blo t 5	0,38	692 (58,2)
Bla g 2	0,15	287 (24,1)
<b>* Ponto de corte baixo (<math>\mu</math> g/g de poeira)</b>		
Der p 1	2,0	274 (23,0)
Can f 1	2,0	160 (13,4)
Fel d 1	1,0	156 (13,1)
Blo t 5	2,0	92 (7,7)
Bla g 2	----	----
<b>**Ponto de corte médio (<math>\mu</math> g/g de poeira)</b>		
Der p 1	5,0	92 (7,7)
Can f 1	5,0	82 (6,9)
Fel d 1	4,0	54 (4,5)
Blo t 5	5,0	22 (1,8)
Bla g 2	----	----
<b>***Ponto de corte alto (<math>\mu</math> g/g de poeira)</b>		
Der p 1	10,0	41 (3,4)
Can f 1	10,0	40 (3,4)
Blo t 5	10,0	6 (0,5)
Fel d 1	----	----
Bla g 2	----	----

\*Pontos de corte para exposição aos alérgenos foram definidos baseados nas concentrações usadas na literatura para os diversos alérgenos, os pontos de corte para sensibilização (ponto de corte baixo), os pontos de corte para desencadeamento de sintomas (ponto de corte alto), e o terceiro ponto de corte arbitrário, com valores médios entre os outros pontos de corte (ponto de corte médio).

Na análise bivariada, a exposição ao alérgeno Der p 1 associou-se positivamente com atopia quando o nível de exposição estava igual ou acima de 2,0  $\mu$  g/g de poeira em comparação com o grupo de crianças não exposto ao mesmo alérgeno, sendo esta associação estatisticamente significativa (OR: 1,70; 95% IC:1,04-2,78;  $p < 0,05$ ). Esta tendência persistiu (OR: 1,75; 95% IC:1,07-2,87;  $p < 0,05$ ) mesmo após a análise multivariada, ajustada para as seguintes variáveis confundidoras: sexo, idade, escolaridade materna, frequência em creche, número de cômodos na casa, infecção por helmintos e asma nos pais. Para os alérgenos Blo t 5 e Bla g 2 não foi observada nenhuma associação significativa ( $P > 0,05$ ) entre suas exposições e atopia (Tabela 5). Para os alérgenos de cão e gato não foi possível estimar a razão de chance, devido ao reduzido número de casos positivos ao teste de punção cutâneo.

**Tabela 5 – Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e atopia em 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005**

Nível do alérgeno na poeira em ( $\mu$ g/g) por categoria	Atopia*			
	Não	Sim	#OR (IC 95%)	##OR (IC 95%) Ajustado
<b>Der p 1</b>				
Não detectado	101	28	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	556	231	1,49 (0,96;2,34)	1,49 (0,95;2,34)
$\geq$ 2,0	186	88	<b>1,70 (1,04;2,78)**</b>	<b>1,71 (1,04;2,81)**</b>
<b>Blo t 5</b>				
Não detectado				
> 0,0 a 2,0	286	212	1,00	1,00
$\geq$ 2,0	315	285	1,22 (0,96;1,55)	1,22 (0,96;1,56)
	56	36	0,86 (0,55;1,36)	0,88 (0,55;1,39)
<b>Bla g 2</b>				
Não detectado	703	200	1,00	1,00
Detectado	220	67	1,07 (0,78;1,46)	1,05 (0,76;1,45)

\*Atopia definida como presença de IgE específica (acima de 0,35 kU/L) e/ou TPC (média acima de 4 mm da média do controle negativo) para os alérgenos estudados. #Regressão binária logística; ##Regressão múltipla logística; ajuste para sexo, idade, escolaridade materna, frequência em creche, número de cômodos na casa, infecção por helmintos e asma nos pais; \*\* $P < 0,05$  Qui<sup>2</sup> de Pearson.



A análise bivariada da presença de asma (definição 1) e a exposição ao alérgeno Blo t 5, mostrou uma associação negativa estatisticamente significativa para sintomas de asma (OR:0,57; 95% IC: 0,33-0,97;  $P<0,05$ ) no grupo exposto a quantidades maiores de  $2,0 \mu\text{ g/g}$  de poeira quando comparado com o grupo não exposto, porém tal resultado não permaneceu após o ajuste para variáveis confundidoras pelo modelo multivariado. Para os demais alérgenos, não foi encontrada uma associação significativa entre a exposição e os sintomas de asma usando esta definição (Tabela 6).

A presença de asma (definição 2) associou-se negativamente à exposição ao alérgeno Fel d 1 no grupo exposto a quantidades maiores de  $1,0 \mu\text{ g/g}$  de poeira quando comparado com o grupo não exposto no modelo de análise bivariada (OR:0,54; 95% IC: 0,32-0,93;  $P<0,05$ ), permanecendo significativa mesmo após a análise multivariada (OR:0,56; 95% IC: 0,32-0,98;  $P<0,05$ ). Para os demais alérgenos não foi observada nenhuma associação estatisticamente significativa entre exposição e sintomas de asma usando esta definição (Tabela 7).

**Tabela 6 – Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 1) em 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005**

Nível do alérgeno na poeira ( $\mu$ g/g) por categoria	<b>*Asma (Definição 1)</b>			
	Não	Sim	#OR (IC 95%)	##OR (IC 95%) Ajustado
<b>Der p 1</b>				
Não detectado	95	34	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	557	230	1,15 (0,75;1,75)	1,10 (0,71;1,70)
$\geq$ 2,0	194	80	1,15 (0,72;1,84)	1,19 (0,73;1,93)
<b>Blo t 5</b>				
Não detectado	342	156	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	431	169	0,86 (0,66;1,11)	0,89 (0,68;1,17)
$\geq$ 2,0	73	19	<b>0,57 (0,33;0,97)**</b>	0,57 (0,33;1,01)
<b>Can f 1</b>				
Não detectado	184	78	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	546	222	0,95 (0,70;1,30)	1,01 (0,73;1,39)
$\geq$ 2,0	116	44	0,89 (0,57;1,38)	1,08 (0,68;1,70)
<b>Fel d 1</b>				
Não detectado	212	86	1,00	1,00
> 0,0 a 1,0	513	223	1,07 (0,79;1,44)	1,07 (0,78;1,45)
$\geq$ 1,0	121	35	0,71 (0,45;1,12)	0,75 (0,47;1,20)
<b>Bla g 2</b>				
Não detectado	634	269	1,00	1,00
Detectado	212	75	0,83 (0,61;1,12)	0,87 (0,63;1,19)

\*Definição de asma como presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança.

\*\* $P < 0,05$  Qui<sup>2</sup> de Pearson; #Regressão binária logística; ##Regressão múltipla logística, ajuste para sexo, idade, escolaridade materna, número de cômodos na casa, fumantes em casa e asma nos pais.

**Tabela 7 – Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 2) em 1190 crianças estudadas, Salvador, 2005**

Nível do alérgeno na poeira em ( $\mu$ g/g) por categoria	*Asma (Definição 2)			
	Não	Sim	#OR (IC 95%)	##OR (IC 95%) Ajustado
<b>Der p 1</b>				
Não detectado	100	29	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	612	175	0,98 (0,63;1,54)	0,95 (0,59;1,50)
$\geq$ 2,0	209	65	1,07 (0,65;1,76)	1,13 (0,67;1,89)
<b>Blo t 5</b>				
Não detectado	372	126	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	473	127	0,79 (0,59;1,05)	0,82 (0,61;1,10)
$\geq$ 2,0	76	16	0,62 (0,35;1,10)	0,65 (0,35;1,17)
<b>Can f 1</b>				
Não detectado	202	60	1,00	1,00
> 0,0 a 2,0	594	174	0,98 (0,70;1,37)	1,02 (0,72;1,45)
$\geq$ 2,0	125	35	0,94 (0,58;1,51)	1,13 (0,69;1,85)
<b>Fel d 1</b>				
Não detectado	232	66	1,00	1,00
> 0,0 a 1,0	554	182	1,15 (0,83;1,59)	1,16 (0,83;1,62)
$\geq$ 1,0	135	21	<b>0,54 (0,32;0,93)**</b>	<b>0,56 (0,32;0,98)**</b>
<b>Bla g 2</b>				
Não detectado	691	212	1,00	1,00
Detectado	230	57	0,80 (0,58;1,12)	0,84 (0,59;1,18)

\*Definição de asma como presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança e algum dos outros sintomas descritos nos Métodos. \*\* $P < 0,05$  Qui<sup>2</sup> de Pearson; #Regressão binária logística; ##Regressão múltipla logística, ajuste para sexo, idade, escolaridade materna, número de cômodos na casa, fumantes em casa e asma nos pais.

Quando se analisou a associação entre categoria de exposição aos alérgenos e ocorrência de sintomas de asma em crianças atópicas e não atópicas, foi observado que não houve diferenças estatisticamente significantes ( $P>0,05$ ) entre os grupos, apesar de ser observado que o grupo de crianças atópicas tinha uma prevalência maior de asma se comparado ao grupo de crianças não atópicas (Tabela 8).

**Tabela 8 – Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 2) em crianças atópicas e não atópicas para os alérgenos específicos**

Nível do alérgeno na poeira ( $\mu$ g/g) por categoria	Não atópicas			Atópicas**		
	n	% Asma* (Definição 2)	#OR (IC 95%) Ajustado	n	% Asma* (Definição 2)	#OR (IC 95%) Ajustado
<b>Der p 1</b>						
Não detectado	101	20,8	1,00	28	28,6	1,00
> 0,0 a 2,0	556	18,3	0,83 (0,48;1,45)	231	31,6	1,10 (0,44;2,70)
$\geq$ 2,0	186	21,0	1,12 (0,60;2,08)	88	29,5	1,00 (0,37;2,67)
<b>Blo t 5</b>						
Não detectado	286	21,0	1,00	212	31,1	1,00
> 0,0 a 2,0	315	17,1	0,76 (0,49;1,16)	285	25,6	0,79 (0,52;1,20)
$\geq$ 2,0	56	14,3	0,63 (0,27;1,45)	36	22,2	0,62 (0,25;1,53)
<b>Bla g 2</b>						
Não detectado	703	21,5	1,00	200	30,5	1,00
Detectado	220	15,9	0,71 (0,46;1,08)	67	32,8	1,15 (0,62;2,14)

\*Definição de asma como presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança e algum dos outros sintomas descritos nos Métodos. \*\*Atopia definida como presença de IgE específica (acima de 0,35 kU/L) e/ou TPC (média acima de 4 mm da média do controle negativo) para os alérgenos estudados. #Regressão múltipla logística, ajuste para sexo, idade, escolaridade materna, número de cômodos na casa, fumantes em casa e asma nos pais.

Foi observado que história de asma nos genitores é um fator associado ao aumento de prevalência de asma nas crianças, porém, para o alérgeno Der p 1, há uma tendência da razão de chance (OR) para asma nas crianças aumentar em função da exposição ao alérgeno, sem significância estatística ( $P > 0,05$ ). Este efeito foi independente da atopia específica nas crianças, pois a análise multivariada foi ajustada para atopia específica para o alérgeno detectado na poeira e para as seguintes variáveis confundidoras: sexo, idade, escolaridade materna, frequência em creche e número de cômodos na casa (Tabela 9 e Figura 4). Para Blo t 5 não existe relação de aumento da asma com a exposição a este alérgeno, enquanto que para o Bla g 2 existe uma associação negativa entre exposição ao alérgeno e asma, sendo estatisticamente significativa nas crianças cujos pais têm história de asma (OR:0,32; IC 95%: 0,11;0,91;  $P < 0,05$ ; Tabela 9).

**Tabela 9 – Razão de chance (“Odds Ratio”) entre exposição aos alérgenos e asma (Definição 2) nas crianças estudadas com e sem asma nos pais**

Nível de alérgenos na poeira em ( $\mu$ g/g)	Asma nos pais*					
	N	Não n=1035		n	Sim n=155	
		% Asma criança** (Definição 2)	#OR (IC 95%) Ajustado		% Asma criança** (Definição 2)	#OR (IC 95%) Ajustado
<b>Der p 1</b>						
Não detectado	117	22,2	1,00	12	25,0	1,00
> 0,0 a 2,0	679	20,6	0,87 (0,53;1,44)	108	32,4	1,59 (0,35;7,14)
$\geq$ 2,0	239	20,1	0,88 (0,50;1,55)	35	48,6	3,26 (0,64;16,53)
<b>Blo t 5</b>						
Não detectado	431	24,1	1,00	67	32,8	1,00
> 0,0 a 2,0	524	18,7	0,72 (0,52;1,00)	76	38,2	1,22 (0,57;2,63)
$\geq$ 2,0	80	15,0	0,60 (0,30;1,17)	12	33,2	1,01 (0,23;4,44)
<b>Bla g 2</b>						
Não detectado	782	21,0	1,00	121	39,7	1,00
Detectado	253	19,8	0,96 (0,66;1,38)	34	20,6	<b>0,32 (0,11;0,91)***</b>

\*Asma nos pais foi definida como resposta positiva a pergunta se o pai ou mãe da criança teve asma  
 \*\*Definição de asma como presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança e algum dos outros sintomas descritos em Métodos. \*\*\* $P < 0,05$  Qui<sup>2</sup> de Pearson; #Regressão múltipla logística, ajuste para sexo, idade, escolaridade materna, número de cômodos na casa, fumantes em casa e atopia específica para o alérgeno detectado na poeira.

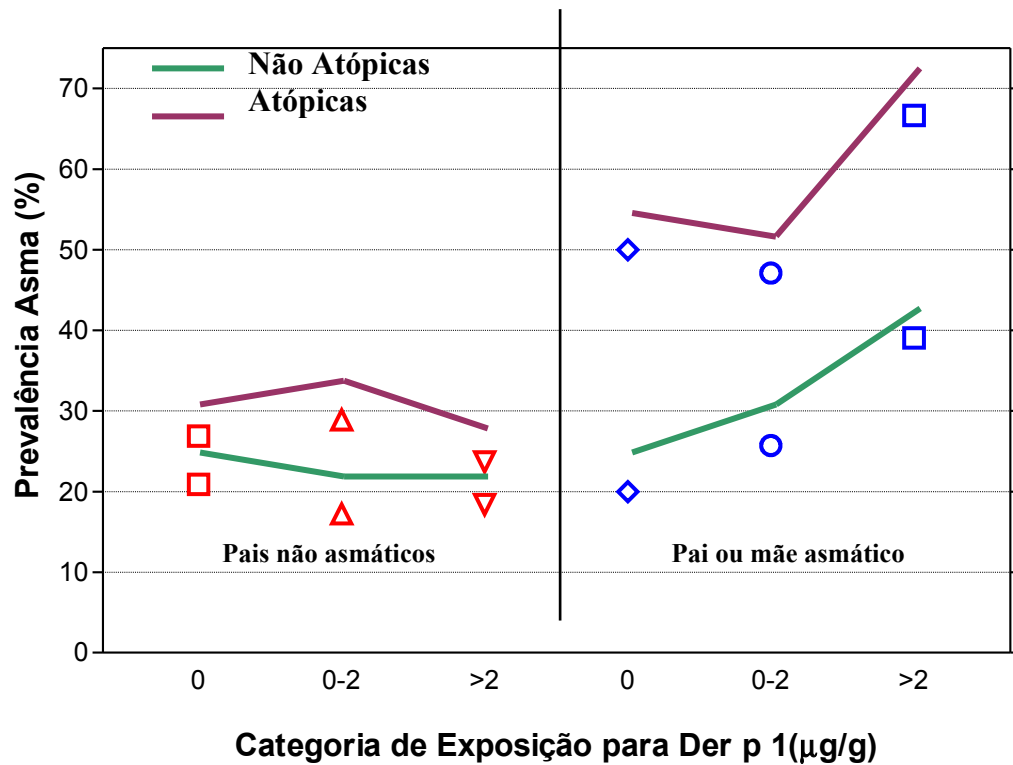


Figura 4 – Prevalência de asma em crianças, definida como presença de sibilos nos últimos 12 meses de vida da criança e algum dos outros sintomas descritos em Materiais e Métodos nas diferentes categorias de exposição ao alérgeno Der p 1 em crianças atópicas ou não para este alérgeno. Atopia definida como presença de IgE específica (acima de 0,35 kU/L) e/ou TPC (média acima de 4 mm da média do controle negativo) para o alérgenos Der p 1. A variável asma nos pais foi definida como resposta positiva a pergunta se o pai ou mãe da criança teve asma.

## 5 DISCUSSÃO

Na população de crianças estudadas foi encontrada uma maior positividade ao teste de puntura cutâneo para alérgenos de ácaros de poeira doméstica comparado com os outros alérgenos testados, sendo o *B. tropicalis* seguido pelo *D. pteronyssinus* os mais importantes aeroalérgenos para estas crianças. Estes dados são concordantes com estudos anteriores do nosso grupo realizado na cidade de Salvador em uma população carente usando o teste de puntura cutâneo (Jesus, 2006) e em grupos sócio-econômicos diferentes, usando a detecção de IgE contra respectivos ácaros (Baqueiro e cols., 2007). Outro estudo feito em Salvador mostrou uma maior prevalência de reatividade ao TPC para o *D. ptenonyssinus* se comparado ao *B. tropicalis* (Medeiros-Jr e cols., 2002). Estes resultados discordantes podem ser atribuídos às diferenças entre os antígenos utilizados no teste de puntura cutâneo ou as diferentes populações estudadas. Enquanto nossos dados são da população geral, os dados do trabalho acima referido são de pacientes ambulatoriais. No Brasil, mais especificamente em Recife, PE, Sarinho e colaboradores (2000), mostraram uma maior sensibilização para o ácaro *B. tropicalis* em relação ao *D. pteronyssinus* utilizando o teste de puntura cutâneo em crianças asmáticas e não asmáticas. Dados relativos a cidades da região Sudeste e Centro-oeste do Brasil (Moreira e cols., 2001; Marques e cols., 2001; Soares e cols., 2007) mostram uma prevalência mais alta de sensibilização pelo teste de puntura cutâneo para o ácaro *D. pteronyssinus* em relação ao *B. tropicalis*. Estes dados indicam que estes dois ácaros são as fontes dos mais importantes aeroalérgenos sensibilizantes do Brasil. A prevalência de sensibilização depende da disponibilidade do alérgeno do ácaro (influenciada pelo clima local e por fatores socioeconômicos) e de fatores genéticos da população. Deve ser considerado também o viés metodológico dos testes usados na detecção desta sensibilização, como a qualidade dos antígenos utilizados para o diagnóstico de hipersensibilidade aos alérgenos estudados.

Em relação à prevalência de atopia por IgE específica, nossos dados mostram também o *B. tropicalis* como a fonte de aeroalérgenos mais importante. Medeiros Jr. e cols. (2004), encontraram resultados semelhantes estudando crianças asmáticas na Bahia, porém com uma população de estudo pequena. Em outro estudo com pessoas alérgicas, Naspitz e cols. (2004), encontram uma maior prevalência de sensibilização aos alérgenos dos ácaros *D.*

*pteronyssinus* e *B. tropicalis* medida pela IgE sérica específica. Não há no Brasil estudo semelhante ao nosso que mostre a sensibilização para aeroalérgenos em crianças em uma amostra tão significativa, utilizando dois métodos de detecção da sensibilização. Desta forma, este estudo torna-se uma referência frente à ocorrência de sensibilização por aeroalérgenos em crianças do país, levando-se em consideração as diferenças regionais.

Neste estudo, a prevalência de sensibilização para *B. germanica* e *P. americana* foram menores em relação aos ácaros e maiores frente aos animais domésticos. Este padrão de sensibilização para alérgenos de barata vem sendo observado em alguns trabalhos no Brasil (Santos e cols., 1999; Moreira e cols., 2001; Nazpits e cols., 2004; Pastorino e cols., 2006). Assim como em outras regiões do país, nossos resultados mostram que as baratas, também em Salvador, são importantes fontes de moléculas alergênicas e podem estar desempenhando um papel importante para o desencadeamento de sintomas alérgicos. Em geral, a detecção a IgE sérica pelo método Unicap da Pharmacia, tem uma sensibilidade muito maior do que o teste de puntura cutâneo (Lopes e cols., 2006). Neste trabalho, dos quatro aerolérgenos estudados, o único que teve prevalências semelhantes de sensibilização pelo TCP e IgE sérica foi a *P. americana*. Uma hipótese que poderia explicar este achado seria uma possível menor sensibilidade do método Unicap da Pharmacia para este alérgeno, talvez porque o antígeno usado não seja suficientemente reativo com soros humanos para ter uma boa sensibilidade. Contudo, outros estudos são necessários para se compreender melhor este resultado.

Nossos dados mostram que, utilizando o TPC, houve uma baixa prevalência de sensibilização para os alérgenos de epitélio de cão (1,1%) e de gato (0,8%). Outros estudos realizados no Brasil mostram, em geral, prevalências maiores para estes alérgenos (Moreira e cols., 2001; Marques e cols., 2001). Pelo menos duas hipóteses poderiam explicar estes resultados: a. diferenças entre os extratos utilizados (diferentes fabricantes); b. na população estudada estes alérgenos induzem pouca sensibilização, talvez por se tratar de alérgenos oriundos de animais europeus (onde os alérgenos utilizados foram produzidos) com os quais as crianças de Salvador não têm contato.

O que pode ser sugerido em relação à alta sensibilização aos ácaros da poeira doméstica e à baixa prevalência de sensibilização aos alérgenos de animais domésticos é que



haja uma maior exposição aos ácaros na 1ª infância da criança, onde as concentrações dos alérgenos de ácaros são muito maiores do que dos animais domésticos, o que ocasiona uma maior chance de sensibilização. Sporick e colaboradores (1995), mostraram que crianças de 12 a 14 anos que residiam em Los Alamos, EUA, onde o ambiente com pouca umidade não favorece o crescimento de ácaros, ocorre uma predominância de sensibilização frente aos alérgenos de animais domésticos, especialmente gatos, além de outros aeroalérgenos. Seus dados mostram que mesmo em casas onde não habitem gatos, as concentrações do alérgeno Fel d 1 estava na média de 3,2  $\mu$  g/g de poeira, enquanto que o alérgeno de ácaro (Der p 1) estava em 0,18  $\mu$  g/g de poeira. Diante da influência da carga genética no desenvolvimento de alergias, a exposição aos alérgenos nas concentrações apropriadas, seja de ácaros, animais domésticos ou baratas, é um fator determinante para o padrão de sensibilização dos indivíduos afetados regionalmente. Isto não exclui que algumas moléculas de agentes alergênicos possuam capacidade maior de induzir sensibilização.

Nossos resultados de detecção de alérgenos na poeira de leitos das crianças estudadas indicam que o alérgeno Der p 1 (proveniente do *D. pteronyssinus*) foi mais freqüente nos diferentes pontos de corte do que o alérgeno Blo t 5 (proveniente do *B. tropicalis*). Baqueiro e colaboradores (2006), mostraram que o alérgeno Blo t 5 foi menos detectado na poeira dos leitos do que o alérgeno Der p 1 apesar do *B. tropicalis* ser o ácaro mais encontrado na poeira por observação direta. Esta discrepância entre sensibilização e presença do alérgeno Blo t 5 na poeira encontrada em nosso estudo pode ser atribuída a uma baixa sensibilidade do ensaio de detecção do Blo t 5, que utiliza anticorpos monoclonais que podem não estar se ligando a todas as isoformas do alérgeno. Yi e cols. (2005), mostraram que utilizando anticorpo policlonal como conjugado, a sensibilidade do ensaio foi aumentada, podendo detectar quantidades menores do alérgeno. Outra possibilidade está ligada à capacidade de conservação da molécula Blo t 5, que pode sofrer desnaturação durante o tempo em que permanece no ambiente, entre sua coleta e os ensaios para a sua detecção. Outros estudos em Salvador (Serravalle & Medeiros Jr., 1999; Medeiros Jr. e cols., 2002) com amostras pequenas, mostraram uma maior freqüência para o *D. pteronyssinus*. Em comparação à cidades dos EUA (Arbes e cols., 2003, Salo e cols., 2008) e da Inglaterra (Atkinson e cols., 1999), a freqüência dos alérgenos de ácaros nos leitos das crianças deste estudo nos pontos de corte de sensibilização (ponto de corte baixo) e de desencadeamento de sintomas alérgicos

(ponto de corte alto), respectivamente 2,0 e 10  $\mu$  g/g de poeira, foram bem mais baixas, provavelmente devido à dosagem dos alérgenos, neste estudo, ser realizada nas poeiras dos leitos de crianças com uma média de idade baixa (7,25 anos), o que pode significar um maior cuidado de limpeza em relação a outros estudos realizados com crianças ou adolescentes com idades maiores ou com adultos (Medeiros Jr., 2002; Arbes e cols., 2003; Baqueiro e cols., 2006; Salo e cols., 2008). Outra hipótese pode ser da condição dos materiais dos leitos estarem com pouco tempo de uso e em melhores condições de conservação, diminuindo a chance de acúmulo destes alérgenos ou ainda, a possibilidade da coleta ter ocorrido em um único momento, o que pode ter coincidido com o período de limpeza dos leitos e consequentemente uma menor quantidade de poeira nos leitos. O mesmo aconteceu para os alérgenos de animais domésticos, como de cão (Can f 1) e gato (Fel d 1), onde houve uma baixa frequência nos pontos de corte citados acima em relação a estudos em cidades dos EUA (Atkinson e cols., 1999; Salo e cols., 2008) ou Alemanha (Chen e cols., 2007). Apesar da alta frequência em níveis detectáveis, eles estão em baixas concentrações nos leitos das crianças, talvez pelos hábitos de não manter estes animais muito tempo dentro de casa, ao contrário de países de clima frio onde os animais permanecem em casa, o que aumentaria muito a chance de encontrar o alérgeno em altas concentrações.

O alérgeno da barata *B. germanica* Bla g 2 foi o alérgeno encontrado em menores concentrações e frequência. Perry e cols. (2006), mostraram que a frequência do alérgeno de barata na cozinha era quase o dobro da frequência do mesmo alérgeno encontrada no quarto de dormir e na sala de televisão. Sendo assim, postula-se que estas baixas frequências ocorreram provavelmente pela coleta de poeira para detectar o alérgeno ter sido feita nos leitos das crianças, enquanto que estes insetos trafegam principalmente locais como a cozinha e banheiro (Arruda e cols., 2005a).

Como ainda não havia sido realizado em Salvador um trabalho sobre exposição aos alérgenos inalantes domiciliares em uma amostra tão significativa na população de crianças, assim como para os dados de sensibilização por teste de puntura cutâneo e dosagem de IgE sérica, nossos resultados de medida de exposição a estes alérgenos nos leitos poderá servir para futuros trabalhos como uma referência em estudos do tema referido.

Neste estudo, foi também observada uma associação dose-resposta para as categorias de níveis dos alérgenos e atopia para o alérgeno Der p 1. A definição de atopia adotada neste estudo tem como base a positividade de IgE específica para o alérgeno testado, com o acréscimo de poucos casos com resultado negativo para IgE sérica porém com resultado positivo no TPC, usando um ponto de corte maior que o de referência (4mm) para aumentar a especificidade do teste e evitar resultados falso-positivos devido à reatividade cruzada entre os alérgenos. Para os demais alérgenos não houve associação entre categorias de níveis dos alérgenos e atopia, resultado que pode ter como uma das explicações possíveis o efeito denominado causalidade reversa que pode ser observado em estudos de corte transversal. Existe também a possibilidade de que a maior fonte de exposição não seja a cama, e sim outros ambientes, como no caso das baratas. O resultado observado para o alérgeno Der p 1 pode ser explicado pela capacidade deste antígeno, ter além da atividade alergênica também uma atividade enzimática de cisteína protease (Sharma e cols.; 2003) que entre outras hipóteses, contribui para a manutenção da resposta Th2 atuando nas células epiteliais do trato respiratório, estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 e IL-8 nas células dendríticas, diminuindo a produção de citocinas Th1 (IL-12) através da clivagem da molécula CD40 e ainda agindo nos linfócitos B, clivando os receptores de baixa afinidade para IgE (CD23), diminuindo o sinal negativo e conseqüentemente a inibição da síntese de IgE. Com a resposta Th2 aumentada a quantidade de IgE específica também será maior, o que justifica tal resultado. Seria também esperado para o alérgeno Der p 1 uma associação positiva entre sintomas de asma e este alérgeno, visto que este pode, além da ação alergênica, irritar as vias aéreas através da ação enzimática. Porém, esta associação não foi observada ( $P>0,05$ ) quando se utilizou uma definição menos específica como a definição de apenas sibilos nos últimos 12 meses. Também para os alérgenos Blo t 5 e Bla g 2, não houve associação com atopia. Para o alérgeno Blo t 5, houve uma associação com asma, pela definição 1, que desapareceu quando foi corrigida pelas variáveis confundidoras. Estes resultados corroboram o resultado encontrado em Salvador por Baqueiro e colaboradores (2006), que também não encontraram associação entre sintomas alérgicos e exposição aos alérgenos de ácaros (Der p 1 e Blo t 5). Uma hipótese para justificar estes achados é que a baixa sensibilidade do ensaio para Blo t 5 não permitiu uma análise correta desta associação.

A sensibilização para o alérgeno Bla g 2, não diferiu significativamente entre as

crianças expostas ou não expostas a este.

Ter utilizado duas definições para asma teve como objetivo poder comparar uma definição muito usada na literatura, porém pouco específica que é a de sibilo nos últimos 12 meses, e para aumentar a sensibilidade foi usada outra definição que considera, além deste sintoma, outras variáveis que são associadas ao quadro da doença. Quando foi utilizada uma definição mais específica de asma (definição 2), pode-se observar uma associação negativa entre o alérgeno de gato (Fel d 1) em concentrações iguais ou maiores que  $1,0 \mu\text{g/g}$  quando comparado com o grupo não exposto, porém não ocorrendo em concentrações moderadas. Este achado corrobora com o relato de Litonjua e cols. (2002), que encontraram associação negativa entre asma e exposição a alérgeno de gato. Estes resultados indicam que o alérgeno de gato, que ocorre em maior concentração na presença do animal no ambiente, pode estar funcionando como um indicador de infecções por microorganismos carregados pelo animal, que podem diminuir a resposta alérgica estimulando a produção de citocinas Th1, diminuindo assim a propensão a desencadear os sintomas de asma. Porém, cabe salientar que este resultado, com o intervalo de confiança de 95% próximo de 1,00, demonstrou que, apesar de significativo, não é tão expressivo. Por outro lado, o mesmo não ocorreu com alérgeno de cão, o que pode ser indicativo de diferentes estilos de vida destes animais.

Um resultado interessante aparece quando a população foi separada entre crianças atópicas ou não atópicas. Seria esperado que no grupo de crianças atópicas, houvesse uma maior proporção de crianças asmáticas à medida que aumentasse a exposição ao alérgeno específico que causa a sensibilização. Nossos resultados mostram que, apesar das crianças atópicas terem uma prevalência maior de asma, esta não aumenta em função da maior exposição aos alérgenos específicos. Estes resultados podem ser explicados pelas seguintes hipóteses: a. a possibilidade de estarmos classificando a asma de maneira incorreta; b. frente aos fatores de risco e proteção associados a asma, nos países em desenvolvimento, a exposição a aeroalérgenos domiciliares ser pouco importante [esta hipótese foi apontada por Baqueiro e cols. (2006), quando encontraram dados semelhantes a estes aqui relatados]; c. a asma identificada neste estudo pode estar sendo causada pela sensibilização a outros alérgenos além dos testados neste estudo.

Quando a população de estudo foi dividida em dois grupos baseados na história de asma nos pais, verificou-se que a prevalência de asma nas crianças com pais asmáticos foi maior em todas as categorias de exposição nos três alérgenos estudados comparando-se com o grupo de crianças que não tem pais alérgicos. Para o alérgeno Der p 1 ocorreu um aumento da asma em crianças com pais asmáticos, de maneira dose-resposta, em função da categoria de exposição ao mesmo, resultado obtido após correção para o fator atopia específica para *D. pteronyssinus*, evidenciando a possível influência de um fator genético no aumento da asma não atópica nas crianças estudadas. A asma é uma doença crônica, onde fatores ambientais e genéticos podem interagir para que ocorra o seu desenvolvimento. Um grande número de genes já foi associado à asma, sendo que existem estudos mostrando um efeito genético, ativado pelo fator de exposição ambiental (Arruda e cols., 2005b; Ober & Thompson, 2005). Isto pode levantar uma hipótese do alérgeno Der p 1 estar modificando a expressão de algum gene ligado ao aumento da asma nas crianças estudadas, porém estudos genéticos bem conduzidos seriam necessários para esclarecer melhor este assunto.

Com este estudo, ficou evidenciada uma associação positiva entre exposição ao alérgeno Der p 1 a partir de  $2,0 \mu\text{g/g}$  de poeira no leito e atopia específica para este alérgeno, assim como uma associação negativa entre exposição a concentrações maiores de  $1,0 \mu\text{g/g}$  de poeira no leito para o alérgeno Fel d 1 e asma. Porém, não foi possível fazer mais associações destas usando concentrações ainda maiores dos alérgenos, como citados em outros trabalhos (Baqueiro e cols., 2006; Celledon e cols., 2007; Salo e cols., 2008), devido a pouca frequência dos alérgenos em níveis mais altos. Talvez essas análises fossem possíveis caso fossem realizadas mais coletas de poeira nos leitos em dias alternados ou ainda, realizando a coleta também no chão do quarto de dormir.

Baseados nos dados apresentados e considerando a multi-causalidade da asma, podemos supor que outros fatores além da exposição aos alérgenos possam estar agindo para desencadear as manifestações de asma encontradas nas crianças do estudo, e a quantidade de exposição ao alérgeno funcionar como um fator secundário. Pode-se pensar também que a exposição atual aos alérgenos de poeira esteja contribuindo não para o desencadeamento, mas para a manutenção ou gravidade dos sintomas. A hipótese da existência de outros fatores mais fortes que estão desencadeando os sintomas de asma fica reforçada quando se observa que

não ocorre um aumento nos sintomas de asma de maneira dose-resposta com o aumento da exposição aos alérgenos em crianças atópicas, que já estão propensas a desenvolver uma resposta Th2.

## 6 SUMÁRIO DOS RESULTADOS E CONCLUSÕES

10 Houve uma maior prevalência de sensibilização nas crianças para o alérgeno de *Blomia tropicalis* em relação aos outros alérgenos, mostrando que este é o principal aeroalérgeno na população de crianças estudada.

1 A alta prevalência de atopia para *Blomia tropicalis* na população de crianças estudada comparada com a frequência e níveis baixos de Blo t 5 nos leitos destas crianças indica que o ensaio de ELISA de captura pode não ser o mais indicado para estudos imunológico-epidemiológicos, pela sua baixa sensibilidade.

1 O alérgeno do ácaro *D. pteronyssinus* (Der p 1), tendo se associado positivamente com sensibilização, indica, nas crianças estudadas, a capacidade do estímulo imunológico da molécula de produzir uma resposta Th2, provavelmente por ter também uma atividade enzimática que auxilia na formação da resposta imunológica.

1 Não houve uma relação dose-resposta do alérgeno de *D. pteronyssinus* (Der p 1) com asma em crianças com pais asmáticos, porém o aumento da prevalência de asma (não atópica) mostrou uma possível associação genética-ambiental deste alérgeno na manifestação da doença mostrando a necessidade de realização de estudos genéticos ligados a este alérgeno nesta população.

1 Em comparação com outros estudos feitos no Brasil e em outros países, apesar das altas frequências dos alérgenos nos leitos das crianças, como mostrado em outros estudos, as concentrações dos alérgenos foram baixas, provavelmente pelos leitos serem submetidos a maiores cuidados de limpeza ou estarem mais bem conservados, devido à pouca idade das crianças estudadas.

1 Apesar da alta frequência dos alérgenos de epitélio de cães e gatos detectados nos leitos das crianças, foi muito baixa a prevalência de testes cutâneos positivos para estes alérgenos, indicando que nesta população eles possuem baixa alergenicidade.

✓A associação de proteção para asma do alérgeno de gato (Fel d 1) provavelmente indica a ocorrência de infecções por microorganismos que, por sua ação no sistema imune, diminuem os sintomas da asma, porém não se pode afirmar neste estudo qual o mecanismo biológico envolvido neste achado.



## 7 REFERÊNCIAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN A.H. **Imunologia Celular e Molecular**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 580p.

ARAÚJO, M.I.A.S.; HOPPE, B.; MEDEIROS-JÚNIOR, M.; ALCANTARA, L.; ALMEIDA, M.C.; SCHIRIEFER, A.; OLIVEIRA, R.R.; KRUSCHEWSKY, R.; FIGUEIREDO, J.P.; CRUZ, A.A.; CARVALHO, E.M. Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. **J. Infect Diseases**. **190**:1797-803, 2004.

ARBES, S.J.; COHN, R.D.; YIN, M.; MUILENBERG, M.L.; BURGE, H.A.; FRIEDMAN, W.; ZELDIN, D.C. House dust mite allergen in US beds: Results from the first National Survey of Lead and Allergen in housing. **J Allergy Clin Immunol**. **111**:408-414, 2003.

ARLIAN, L.G.; PLATTS-MILLS, T.A.E. The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. **J Allergy Clin Immunol**. **107**:S406-13, 2001.

ARRUDA, L.K.; VAILES, L.D.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; FERNANDEZ-CALDAS, E.; [MONTEALEGRE, F.](#); [LIN, K.L.](#); [CHUA, K.Y.](#); [RIZZO, M.C.](#); [NASPITZ, C.K.](#); [CHAPMAN, M.D.](#) Sensitization to *Blomia tropicalis* in patients with asthma and identification of allergen Blo t 5. **Am J Respir Crit Care Med**. **155**:343-350, 1997.

ARRUDA, L.K.; SANTOS, A.B.R.; FERRIANI, V.P.L.; SALES, V.S. Alergia a barata: papel na asma. **Rev bras alerg imunopatol**. **28(4)**:172-180, 2005a.

ARRUDA, L.K.; SOLÉ, D.; BAENA-CAGNANI, C.E.; NASPITZ, C. Risk factors for asthma and atopy. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**. **5**:153-159, 2005b.

[ARSHAD, S.H.](#); [BOJARSKAS, J.](#); [TSITOURA, S.](#); [MATTHEWS, S.](#); [MEALY, B.](#); [DEAN, T.](#); [KARMAUS, W.](#); [FRISCHER, T.](#); [KUEHR, J.](#); [FORSTER, J.](#); [SPACE STUDY GROUP.](#) Prevention of sensitization to house dust mite by allergen avoidance in school age children: a randomized controlled study. **Clin Exp Allergy**. **32(6)**:843-9, 2002.

ASONIKANTHAN, N.; GRAHAN, P.T.; STEWART, D.J.; BAKKER, A.J.; EIDNE, K.A.; THOMPSON, P.J.; STEWART, G.A. House dust mite allergen induce proinflammatory cytokines from respiratory epithelial cells : the cysteine protease allergen, Der p 1, activates protease-activated receptor (PAR)-2 and inactivates PAR-1. **J. Immunology**. **169**:4572-4578, 2002.

ATKINSON, W.; HARRIS, J.; MILLS, P.; MOFFAT, S.; WHITE, C.; LYNCH, O.; JONES, M.; CULLINAN, P.; TAYLOR, N. Domestic aeroallergen exposure among infants in a English town. **Eur Respir J.** **13**:583-589, 1999.

BAQUEIRO, T.; CARVALHO, F.M.; FREITAS-RIOS, C.; dos SANTOS, N.M.; ALCANTARA-NEVES, N.M. Dust mite species and allergen concentrations in beds of individual belonging to different urban socioeconomic groups in Brazil. **J Asthma.** **43(2)**:101-105, 2006.

BAQUEIRO, T.; PONTES-DE-CARVALHO, L.; CARVALHO, F.M.; SANTOS, N.M.; ALCANTARA-NEVES, N.M.; MEDICAL STUDY GROUP. Asthma and rhinitis symptoms in individuals from different socioeconomic levels in a Brazilian city. **Allergy and asthma proceedings.** **28(3)**:362-367, 2007.

BARRETO, M.L.; CUNHA, S.S.; ALCANTARA-NEVES, N.; CARVALHO, L.P.; CRUZ, A.A.; STEIN, R.T.; GENSER, B.; COOPER, P.J.; RODRIGUES, L.C. Risk factors and immunological pathways for asthma and other allergic diseases in children: background and methodology of a longitudinal study in a large urban center in Northeastern Brazil (Salvador-SCAALA study). **BMC Pulm Med.** **23**:6:15, 2006.

BELANGER, K.; BECKETT, W.; TRICHE, E.; BRAKEN, M.B.; HOLFORD, T.; McSHARRY, J.; GOLD, D.R.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; LEADERER, B.P. Symptoms of wheeze and persistent cough in the first year of life: Associations with indoor allergens, air contaminants, and Maternal history of asthma. **Am J Epidemiol.** **158**:195-202, 2003.

CAMARA, A.A.; SILVA, J.M.; FERRIANI V.P.L.; TOBIAS, K.R.C.; MACEDO, I.S.; PADOVANI, M.A.; HARSI, C.M.; CARDOSO, M.R.A.; CHAPMAN, M.D.; ARRUDA, E.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; ARRUDA, L.K. Risk factors for wheezing in a subtropical environment: Role of respiratory viruses and allergen sensitization. **J Allergy Clin Immunol.** **113**:551-7, 2004.

CELLEDON, J.C.; MILTON, D.; RAMSEY C.D.; LITONJUA A.A.; RYAN L.; PLATTS-MILLS, T.A.E; GOLD, D.R. Exposure to dust mite allergen and endotoxin on early life and asthma and atopy in childhood. **J Allergy Clin Immunol.** **120**:144-9, 2007.

CELLEDON, J.C.; LITONJUA, A.A.; RYAN, L.; PLATTS-MILLS, T.; WEISS, S.T.; GOLD, D.R. Exposure to cat allergen, maternal history of asthma, and wheezing in first 5 years of life. **Lancet.** **360**:781-82, 2002.

CHAPMAN, M.D.; POMES, A.; BREITENEDER, H.; FERREIRA, F. Nomenclature and structural biology of allergens. **J Allergy Clin Immunol.** **119**:414-20, 2007.

CHEN, C.M.; RZEHA, P.; ZUTAVERN, A.; FAHLBUSCH, B.; BISHOP, W.; HERBATH, O.; BORTE, M.; LEHMANN, I.; BEHRENDT, H.; KRAMER, U.; WICHMANN, H.E.; HEINRICH, J.; LISA study group. Longitudinal study on cat allergen exposure and the development of allergy in young children. **J Allergy Clin Immunol.** **119**:1148-55, 2007.

COOKSON, W. The alliance of genes and environment in asthma and allergy. **Nature**, **402**:B5-B11, 1999.

CRESTANI, E.; GUERRA, S.; WRIGHT, A.L.; HALONEN, M.; MARTINEZ, F.D. Parental asthma as a risk factor for the development of early skin test sensitization in children. **J Allergy Clin Immunol**, **113**:284-90, 2004.

CUSTOVIC, A.; SIMPSON, B.M.; SIMPSON, A.; HALLAN, C.L.; MAROLIA, H.; WALSH, D.; CAMPBELL, J.; WOODCOCK, A.; MANCHESTER ASTHMA AND ALLERGY STUDY GROUP. Current mite, cat, and dog allergen exposure, pet ownership, and sensitization to inhalant allergens in adults. **J Allergy Clin Immunol.** **111**:402-7, 2003.

DEVENNY, A.; WASSAL, H.; NINAN, T.; OMRAN, M.; KHAN, S.D.; RUSSEL, G. Respiratory symptoms and atopy in children in Aberdeen: questionnaire studies of a defined school population repeated over 35 years. **BMJ**, **329**:489-490, 2004.

FERNANDES, J.K.S.; PASCHOAL-JÚNIOR, F.M.; SALES, L.H.M.; MEDEIROS-JÚNIOR, M.; BELLESI, N.; GUIMARAES, K.S. Teste cutâneo de puntura e identificação de ácaros em amostras de poeira domiciliar em populações economicamente distintas. **Rev bras alergologia e imunopatol.** **28(6)**:304-308, 2005.

FERNANDEZ-CALDAS, E.; PUERTA, L.; MERCADO, D.; LOCKEY, R.F.; CARABALLO, R.L. Mite fauna, *Der p I*, *Der f I* and *Blomia tropicalis* allergen levels in a tropical environment. **Clin Exp Allergy.** **23(4)**:292-297, 1993.

FERNANDEZ-CALDAS, E.; LOCKEY, R.F. *Blomia tropicalis*, a mite whose time is come. **Allergy.** **59**:1161-1164, 2004.

FERRÁNDIZ, R.; CASAS, R.; DREBORG, S. Sensitization to *Dermatophagoides siboney*, *Blomia tropicalis*, and other domestic mites in asthmatic patients. **Allergy** **51 (7)**:501-505, 1996.

GEHA, R.S.; JABARA H.H.; BRODEUR S.R. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. **Nature Reviews**. 3:721-732, 2003.

GHAEMMAGHAMI, A.M.; GOUGH, L.; SEWELL, H.F.; SHAKIB, F. The proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 conditions dendritic cells to produce less interleukin-12: allergen-induced Th2 bias determined at the dendritic cell level. **Clin Exp Allergy**. 32(10):1468-1475, 2002

GOLD, D.R.; BURGE, H.A.; CAREY, V.; MILTON, D.K.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; WEISS, S.T. Predictors of repeated wheeze in the first year of life: the relative roles of cockroach, birth weight, acute lower respiratory illness, and maternal smoking. **Am J Respir Crit Care Med**. 160:227-236, 1999.

GRUCHALLA, R.S.; PONGRACIC, J.; PLAUT, M.; EVANS, R.; VISNESS, C.M.; WALTER, M.; CRAIN, E.F.; KATTAN, M.; MORGAN, W.J.; STEINBACH, S.; STOUT, J.; MALINDZAK, G.; SMARTT, E.; MITCHELL, H. Inner City Asthma Study: Relationship among sensitivity, allergen exposure, and asthma morbidity. **J Allergy Clin Immunol**. 115:478-85, 2005.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico J. publ. Health**. 9:281-298, 1934.

HUANG, J.L.; CHEN, C.C.; KUO, M.L.; HSIEH, K.H. Exposure to a high concentration of mite allergen in early infancy is a risk factor for developing atopic dermatitis: A 3-year follow-up study. **Pediatr Allergy Immunol**. 12:11-16, 2001.

HUSS, K.; ADKISON, N.K.; EGGLESTON, P.A.; DAWSON, C.; van NATTA, M.L.; HAMILTON, R.G. House dust mite and cockroach exposure are strong risk factors for positive allergy skin test responses in the Childhood Asthma Management program. **J Allergy Clin Immunol**. 107:48-54, 2001.

INGRAM, J.M.; SPORIK, R.; ROSE, G.; HONSINGER, R.; CHAPMAN, M.D.; PLATTS-MILLS, T.A.E. Quantitative assessment of exposure to dog (Can f 1) and cat (Fel d 1) allergens: relation to sensitization and asthma among children living in Los Alamos, New México. **J Allergy Clin Immunol**. 96:449-56, 1995.

INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGIES IN CHILDHOOD – (ISAAC): Worldwilde variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic conjunctivitis,

and atopic eczema. **Lancet**, **351**:1225-1232, 1998.

JANEWAY, C.A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. **IMUNOBIOLOGIA: o sistema imune na saúde e na doença**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 767p.

JESUS, J.R. Investigação sobre associação entre ácaros de poeira, atopia, manifestações alérgicas e infecções intestinais helmínticas. 2006. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

JOHANSSON, S.G.O.; BIEBER, T.; DAHL, R.; FRIEDMANN, P.S.; LANIER, B.P.; LOCKEY, R.F.; MOTALA, C.; MARTELL, J.A.O.; PLATTS-MILLS T.A.E.; RING, J.; THIEN, F.; van CAUWENBERGE, P.; WILLIAMS, H.C. Revised nomenclature for allergy global use: Report of the nomenclature review committee of the World Allergy Organization, October, 2003. **J Allergy Clin Immunol**, **113**:832-836, 2004.

KAISER, L.; GRONLUND, H.; SANDALOVA, T.; LJUNGGREN, H.G.; van HAGE-HAMSTEN, M.; ACHOUR, A.; SCHNEIDER, G. The crystal structure of the major cat allergen Fel d 1, a member of secretoglobulin family. **J Biological Chemistry**. **278(39)**:37730-35, 2003.

KATZ, N. A device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. **14(6)**:397-400, 1972.

KUEHR, J.; FRISCHER, T.; MEINERT, R.; BARTH, R.; FORSTER, J.; SCHRAUB, S.; URBANEK, R.; KARMAUS, W. Mite allergen exposure is a risk for the incidence of specific sensitization. **J Allergy Clin Immunol**. **94**:44-52, 1994.

KUO, I.C.; CHEONG, N.; TRAKULTIVAKORN, M.; LEE, B.W.; CHUA, K.Y. Na extensive study of human IgE cross-reactivity of Blo t 5 and Der p 5. **J Allergy Clin Immunol**. **111**:603-609, 2003.

LAU, S.; FALKENHORST, G.; WEBER, A.; WERTHMANN, I.; LIND, P.; BUETTNER-GOETZ, P.; WAHN, U. High mite-allergen exposure increase the risk of sensitization in atopic children and young adults. **J Allergy Clin Immunol**. **84(5)**:718-25, 1989.

LAU, S.; ILLI, S.; SOMMERFELD, C.; NIGGEMANN, B.; BERGMANN, R.; von MUTIUS, E.; WAHN, U and Multicentre Allergy Study Group. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. **Lancet**.

356:1392-97, 2000.

LICCARDI, G.; D'AMATO, G.; CANONICA, G.W.; HRABINA, M.; PICCOLO, A.; D'AMATO, M.; PASSALACQUA, G. Direct and prolonged exposures to dogs does not influence the degree of skin prick test positivity to dog allergen. **J Invest Allergol Clin Immunol.** **15(3)**:167-171, 2005.

LINDFORS, A.; van HAGE-HAMSTEN, M.; RIETZ, H.; WICKMAN, M.; NORDVALL, S.L. Influence of interaction of environmental risk factors and sensitization in young asthmatic children. **J Allergy Clin Immunol.** **104**:755-762, 1999.

LITONJUA, A.A.; CAREY, V.J.; BURGE, H.A.; WEISS, S.T.; GOLD, D.R.; Exposure to cockroach allergen in the home is associated with incident doctor diagnosed asthma. **J Allergy Clin Immunol.** **107**: 41-47. 2001.

LITONJUA, A.A.; MILTON, D.K.; CELEDON, J.C.; RYAN, L.; WEISS S.T.; GOLD, D.R.; A longitudinal analysis of wheezing in young children: The independent effects of early life exposure to house dust endotoxin, allergens, and pets. **J Allergy Clin Immunol.** **110**:736-42, 2002.

LOPES, M.I.L.; MIRANDA, P.J.; SARINHO, E. Use of the skin prick test and specific immunoglobulin E for the diagnosis of cockroach allergy. **J Pediatr.** **82(3)**:204-209, 2006.

MARQUES, M.C.; PINTO, J.A.; GRECO, D.B. Sensibilização a aeroalérgenos em crianças e adolescentes atópicos em Belo Horizonte, MG: comparação da estimativa de IgE específica "in vivo" versus "in vitro". **Rev bras alerg imunopatol.** **24(1)**:22-32, 2001.

MATHESON, M.C.; ABRANSON, M.J.; DHARMAGE, S.C.; FORBES, A.B.; RAVENT, J.M.; THIEN, F.C.K.; WALTER, E.H. Changes in indoor allergen and fungal levels predict changes in asthma activity among young adults. **Clin Exp Allergy.** **35**:907-913, 2005.

MEDEIROS-JÚNIOR, M.; FIGUEIREDO, J.P.; ALMEIDA, M.C.; ATTA, A.M.; TAKETOMI, E.A.; SILVA, D.A.O.; TERRA, A.S.; AMORIM, W.W.; PINHO, R.S.; ARAÚJO, M.I.; CARVALHO, E.M. Association between mite allergen (Der p 1, Der f 1, Blo t 5) levels and microscopic identification of mites or skin prick test results in asthmatic subjects. **Int Arch Allergy Immunol.** **129**:237-241, 2002.

MEDEIROS-JÚNIOR, M.; ALMEIDA, M.C.; FIGUEIREDO J.P.; ATTA, A.M.; MENDES, C.M.C.; ARAÚJO, M.I.; TAKETOMI, E.A.; TERRA, S.A.; SILVA, D.A.O.; CARVALHO,

E.M. Low frequency of positive skin tests in asthmatic patients infected with *Schistosoma mansoni* exposed to high levels of mite allergens. **Paediatr Allergy Immunol.** **15**:142-147,2004.

MONTEALEGRE, F.; GOTH, K.; HART, B. Immunoblot analysis and comparative IgE responses of atopic patients to extracts of the domestic mite *Blomia tropicalis*. **P R Health Sci J.** **25(1)**:7-15, 2006.

MOREIRA, M.R.; MENDONÇA, M.R.M.F.; GOMES-JR, E.A.; SOUZA, G.G.; GERVÁSIO, A.M.; SOPELETE, M.C.; SILVA, D.A.O.; ARRUDA-CHAVES, E.; TAKETOMI, E.A. Sensibilização a alérgenos inaláveis domiciliares em pacientes asmáticos em Uberlândia, MG. **Rev bras alerg imunopatol.** **24(1)**:11-21, 2001.

[MORGAN, W.J.](#); [CRAIN, E.F.](#); [GRUCHALLA, R.S.](#); [O'CONNOR, G.T.](#); [KATTAN, M.](#); [STOUT, J.](#); [MALINDZAK, G.](#); [SMARTT, E.](#); [PLAUT, M.](#); [WALTER, M.](#); [VAUGHN, B.](#); [MITCHELL, H.](#); [INNER-CITY ASTHMA STUDY GROUP.](#) Results of a home-based environmental intervention among urban children with asthma. **N Engl J Med.** **351(11)**:1068-80, 2004.

MURRAY, C.S.; WOOCOCK, A.; CUSTOVIC, A. The role of indoor allergen exposure in the development of sensitization and asthma. **Curr Opin Allergy Clin Immunol.** **1**:407-412, 2001.

NAFSTAD, P.; MAGNUS, P.; GAARDER, P.I.; JAAKKOLA, J.J.K. Exposure to pets and atopy-related diseases in the first 4 years of life. **Allergy.** **56**:307-312, 2001.

NAZPITS, C.K.; SOLÉ, D.; JACOB, C.A.; SARINHO, E.; SOARES, F.J.P.; DANTAS, V.; MALLOZI, M.C.; WANDALSEN, N.F.; BORGES, W.; ROCHA-FILHO, W.; GRUPO PROAL. Sensitization to inhalant and food allergens in Brazilian atopic children by *in vitro* total and specific IgE assay. Allergy Project – PROAL. **J. Pediatr.** **80(3)**:203-10, 2004.

NICOLAOU, N.; YIALLOUROS, P.; PIPIS, S.; SIMPSON, A.; CUSTOVIC, A. Domestic allergen and endotoxin exposure and allergic sensitization in Cyprus. **Pediatr Allergy Immunol.** **17**:17-21, 2006.

OBER, C.; THOMPSON E.E. Rethinking models of asthma: the role of environmental modifiers. **Curr Opin Immunol.** **17**:670-678, 2005.

PEAT, J.K.; van DEN BERG, R.H.; GREEN, W.F.; MELLIS, C.M.; LEEDER, S.R.;

WOLCOCK, A.J. Changing prevalence of asthma in Australian children. **BMJ**, **308**:1591-1596, 1994.

PASTORINO, A.C.; KUSCHNIR, F.C.; ARRUDA, L.C.P.; CASAGRANDE, R.R.D.; SOUZA, R.G.L.; DIAS, G.A.C.; SILVEIRA, H.H.N.; CUNHA, A.J.L.A.; JACOB, C.M.A.; SOLÉ, D. Sensitization to aeroallergens in Brazilian adolescents living at large urban centers. **J Allergy Clin Immunol**. **117**(2):S294, 2006.

PEAT, J.K.; TOVEY, E.; TOELLE, B.G.; HABY, M.M.; GRAY, E.J.; MAHMIC, A.; WOOLCOCK, A.J. House dust mite allergens: A major risk factor for childhood asthma in Australia. **Am J Respir Crit Care Med**. **153**(1):141-146, 1996.

PERRY, T.T.; WOOD, R.A.; MATSUI, E.C.; CURTIN-BROSNAN, J.; RAND, C.; EGGLESTON, P.A. Room-specific characteristics of suburban homes as predictor of indoor allergen concentrations. **Ann Allergy Asthma Immunol**. **97**:628-635, 2006.

PLATTS-MILLS, T.A.E.; de WECK, A.L. Chairmen. Report of the meeting: Mite allergy a worldwide problem. Workshop, Bad Kreuznach. 1987, 3-12. **J Allergy Clin Immunol**. **83**:416-427, 1989.

PLATTS-MILLS, T.A.E.; THOMAS, W.R.; AALBERSE, R.C.; VERVLOEF, D.; CHAPMAN, M.D. Co-chairman. Workshop. 1990. Oxfordshire. Dust mite allergens and asthma: Report of a Second International Workshop. **J Allergy Clin Immunol**. **89**:1046-1060, 1992.

PLATTS-MILLS, T.A.E.; Indoor allergens. In: E MIDDLETON, JR, C E REED and E F ELLIS, Editors. **Allergy, Principles and Practice**. St Louis: Mosby-year book Inc., 1998. pp. 393-403.

PLATTS-MILLS, T.A.E.; VERVLOEF, D.; THOMAS, W.R.; AALBERSE, R.C.; CHAPMAN, M.D. Chairmen. Indoor allergens and asthma: Report of the Third International Workshop. **J Allergy Clin Immunol**. **100**:S1-S24, 1997.

SANTOS, A.B.R.; CHAPMAN, M.D.; AALBERSE, R.C.; VAILES, L.D.; FERRIANI, V.P.L.; OLIVER, C.; RIZZO, M.C.; NASPITZ, C.K.; ARRUDA, L.K. Cocroach allergens and asthma in Brazil: Identification of tropomyosin as a major allergen with potential cross-reactivity with mite and shrimp allergens. **J Allergy Clin Immunol**. **104**:329-37, 1999.

SALO, P.M.; ARBES, S.J.; CROCKETT P.W.; THORNE P.S.; COHN, R.D.; ZELDIN D.C.



Exposure to multiple indoor allergens in US homes and its relationship to asthma. **J Allergy Clin Immunol.** **121**:678-84, 2008.

SARINHO, E; RIZZO, MC; JUST, E; FERNANDEZ-CALDAS, E; SOLÉ, D. Sensibilização aos ácaros domésticos em crianças atópicas e não-atópicas de Recife, PE, Brasil. **Rev. bras. alergia imunopatol.** **23(3)**:105-10, 2000.

SCHULZ, O.; SEWELL, H.F.; SHAKIB, F. The interaction between the dust mite antigen Der p 1 and cell-signalling molecules in amplifying allergic disease. **Clin Exp Allergy.** **29**:439-444, 1999.

SERRAVALLE, K.; MEDEIROS-JUNIOR, M. Ácaros na poeira domiciliar na cidade de Salvador – Bahia. **Rev Bras Alerg Imunopatol.** **22(1)**:19-24, 1999.

SHARMA, S.; LACKIE, P.M.; HOLGATE, S.T. Uneasy breather: the implications of dust mite allergens. **Clin Exp Allergy.** **33**:163-165, 2003.

SOARES, F.A.A.; SILVA-SEGUNDO, G.R.; ALVES, R.; YNOUE, L.H.; RESENDE, R.O.; SOPELETE, M.C.; SILVA, D.A.O.; SUNG, S.S.J.; TAKETOMI, E.A. Perfil de sensibilização a alérgenos domiciliares em pacientes ambulatoriais. **Rev Assoc Med Bras.** **53(1)**:25-28, 2007.

SOLÉ, D.; WANDALSEN, G.F.; CAMELO-NUNES, I.C.; NASPITZ, C.K.; ISSAC-Grupo Brasileiro. Prevalence of symptoms os asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified by International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) - Phase 3. **J Pediatr,** **82(5)**:341-6, 2006.

SPIVACKE, C.A.; GROVE, E.F. Studies in hypersensitiveness XIV:a study of the atopen in house dust. **J Immunol,** **10**:465, 1924.

SPORIK, R.; HOLGATE, S.T.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; COGSWELL, J.J. Exposure to dust mite allergen (*Der p 1*) and the development of asthma in childhood. **New England Journal of Medicine.** **23**:502-507, 1990.

SPORIK, R.; INGRAM, J.M.; PRICE, W.; SUSSMAN J.H.; HONSINGER R.W.; PLATTS-MILLS, TAE. Association of asthma with serum IgE and skin test reactivity to allergens among children living at high altitude: Tickling the Dragon's breath. **Am J Respir Crit Care Med.** **151**:1388-1392, 1995.

SPORIK, R.; SQUILLACE, S.P.; INGRAM, J.M.; RAKES, G.; HONSINGER, R.W.; PLATTS-MILLS, T.A.E. Mite, cat, and cockroach exposure, allergen sensitization, and asthma in children: a case-control study of three schools. **Thorax**. **54**:675-680, 1999.

STRACHAN, D.P. Hay fever, hygiene, and household size. **BMJ**, **299**:1159-60, 1989.

TSAI, J.J.; WU, H.H.; SHEN, H.D.; HSU, E.L.; WANG, S.R. Sensitization to *Blomia tropicalis* among asthmatic patients in Taiwan. **Int Arch Allergy Immunol**. **115**:144-9, 1998.

TSAI, J.J.; YI, F.C.; CHUA, K.Y.; LIU, Y.H.; LEE, B.W.; CHEONG, N. Identification of the major allergenic components in *Blomia tropicalis* and the relevance of the specific IgE in asthmatic patients. **Ann Allergy Asth Immunol**. **91**(5):485-489, 2003.

UPTON, M.N.; McCONNACHIE, A.; McSHARRY, C.; HART, C.L.; SMITH, G.D.; GILLIS, C.R.; WATT, G.C.M. Intergenerational 20 year trends in the prevalence of asthma and hay fever in adults: the Midspan family study surveys of parents and offspring. **BMJ**, **321**:88-92, 2000.

VERVLOET, D.; ANDRADE, A.D.; PASCAL, L.; LANTEAUME, A.; DUTAU, H.; ARMENGAUD, A.; SAMBUC, R.; CHARPIN, D. The prevalence of reported asthma is independent of exposure in house dust mite-sensitized children. **Eur Respir J**. **13**:983-987, 1999.

VOORHORST, R.; SPIEKSMAN, F.T.M.; VAREKAMP, H.; LEUPEN, M.J.; LYKLEMA, A.W. The house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) and the allergens it produces: identity with the house dust allergen. **J Allergy**. **39**(6):325, 1967.

WAHN, U.; LAU, S.; BERGMANN, R.; KULIG, M.; FORSTER, J.; BERGMANN, K.; BAUER, C.P.; GUGENMOOS-HOLZMANN, I. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. **J Allergy Clin Immunol**. **99**:763-9, 1997.

YEOH, S.M.; KUO, I.C.; WANG, D.Y.; LIAM, C.K.; SAM, C.K.; de BRUYNE, J.A.; LEE, B.W.; CHEONG, N.; CHUA, K.Y. Sensitization Profiles of Malaysian and Singaporean Subjects to Allergens from *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Blomia tropicalis*. **Int Arch Allergy Immunol**. **132**:215-220, 2003.

YI, F.C.; LEE, B.W.; CHEONG, N.; CHUA, K.Y. Quantification of Blo t 5 in mite and dust extracts by two-site ELISA. **Allergy**. **60**:108-112, 2005.

YI, F.C.; SHEK, L.P.; CHEONG, N.; CHUA, K.Y.; LEE, B.W. Molecular cloning of *Blomia tropicalis* allergens—a major source of dust mite allergens in the tropics and subtropics. **Inflamm Allergy Drug Targets**. **5(4)**:261-6, 2006.

**APÊNDICE A – Manuscrito**

**TITLE: Exposure to house dust allergens and their association with atopy and asthma in children 4 to 12 years old**

Samuel Badaró Junqueira<sup>a,b</sup>, Vitor Dattoli <sup>a,b</sup>, Rafael Veiga <sup>a,b</sup>, Livia Mendonça Ribeiro <sup>a,b</sup>, Sérgio Cunha <sup>a,c</sup>, Maurício Lima Barreto <sup>a,c</sup>, Neuza Maria Alcântara-Neves <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>SCAALA (Social Change, Asthma and Allergy in Latin America) research program;

<sup>b</sup>Instituto de Ciências da Saúde and <sup>c</sup>Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Brazil.

**Corresponding author:**

**Neuza Maria Alcântara-Neves**

Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia

Avenida Reitor Miguel Calmon, sem nº, Canela,

CEP – 40110-100

Salvador, Bahia, Brazil

E-mail: neuza@ufba.br

## ABSTRACT

**Title:** Exposure to house dust allergens and its association with atopy and asthma in children 4 to 12 years-old. **Introduction:** The allergens present in the house dust are considered risk factors for development of allergy. Some studies show a dose-response relationship between exposure to allergens and occurrence of sensitization and asthma while others do not show these associations. **Objectives:** To investigate possible associations between exposure to indoor allergens with sensitization to allergens and asthma in 1060 children. **Methods:** History of asthma was collected using a modified ISAAC phase II questionnaire. Skin prick tests were done for *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *P. americana*, *B. germanica*, fungi, dog and cat epithelium extracts. Specific IgE were assayed for the former four allergens. Dust from the children beds and assayed for Der p 1, Blo t 5, Can f 1, Fel d 1 and Bla g 2 allergens. **Results:** Asthma occurred in 22,8% of the children. The most prevalent sensitization was to *B. tropicalis* (44,8%) and *D. pteronyssinus* (29,3%). The most common allergen in bed was Der p 1 (89.5%), followed by Can f 1 (77.1%), Fel d 1 (74,7%), Blo t 5 (58.5%) and Bla g 2 (24.0%). There was a positive association between Der p 1 exposure between 0,39-2,0 $\mu$  g/g and  $\geq$  2,0 $\mu$  g/g and IgE to *D. pteronyssinus*; (OR: 1.77, CI 95%: 1,07-2,92 and OR: 1.82, CI 95%: 1,05-3,14, respectively). **Conclusions:** The Der p 1 association with specific IgE, facilitated by Der p 1 enzymatic property, and non-association with SPT reactivity was probably for presence of unknown factors inhibiting skin mast cell degranulation. Blot 5 was present in lower frequency and concentration in the children beds but *B. tropicalis* induced higher sensitization rates, suggesting that the assay for its detection has low sensitivity. The lack of association between allergen exposure and asthma occur due the low frequency in triggering symptoms levels of these allergens.

Keywords: 1.Dust allergens 2.Asthma 3.Skin Prick Tests, 4.*Dermatophagoides pteronyssinus*

## INTRODUCTION

The increase in prevalence and incidence of allergic diseases seen in the last 30 years in many countries (Devenny et al, 2004) has been associated, among other causes, to the increase of exposure to indoor allergens in consequence of the change in lifestyle, with people spending more time inside than outside homes, in prosperous environments (Platts-Mills et al, 1997). These indoor allergens are frequently found in house dust, and since the 1920 decade, it were observed evidences of the linking between house dust allergens and allergy (Spivacke & Grove, 1924). In the 1960's, Voorhost and collaborators (1967), identified the genus *Dermathophagoides* as a major source of allergen in dust of sensitized individuals bed, enlightening the importance of house dust mites in sensitization of allergic individuals, In some places lacking favorable conditions for the mite colonization, other sources of indoor allergens such as pet epithelia and cockroaches, are important regional sensitization agents. (Platts-Mills & de Wecker, 1989; Sporik et al., 1995). Some studies, carried out in developed countries in this subject have shown a dose-response relationship in the association between allergen exposure with sensitization and asthma. House dust mite (HDM) allergens, like Der p 1, was associated with sensitization (Kuer et al, 1994; Custovic et al, 2003) and asthma (Sporik et al, 1990; Celledon et al, 2007) using the cut-offs of 2,0  $\mu$  g/g and 10,0  $\mu$  g respectively, defined previously by International Workshops, (Platts-Mills & de Wecker, 1989, Platts-Mills et al, 1992, 1997). For other allergens, like animal dander and cockroach, no cut-offs have been already determined. These findings are however controversial, and absence of association between allergen exposure with sensitization and asthma have been reported, mostly in developing countries (Lau et al, 2000; Celledon et al, 2007). In Brasil, a developing country presenting higher prevalence of allergic diseases (Solé et al., 2006), Câmara and collaborators (2004) and Baqueiro and collaborators (2006) did not found association between allergic symptoms and presence of dust mite and their allergens in beds of adult population, meanwhile, Medeiros-Júnior and collaborators (2002) reported an association between sensitization measured by SPT with exposure to both dust mites and their allergens in adult asthmatic patients in Salvador, the same city where the work of Baqueiro and collaborators (2006) took place.

In this study we aimed at studding, the frequencies of dust allergens present in a cohort of 1445 children beds and their association with sensitization and asthma in these children.

## **METHODS**

### **Studied population**

This study was conducted in Salvador, Northeastern Brazil, a city with a 2.5 million population where the prevalence of reported wheezing in the past 12 months in school children aged 4-12 years is very high (27.1%), as detected by Rodrigues and collaborators (2008). In short, a cohort of 1445 children between 4 and 12 years-old enrolled in a 1994 to 2001 study for measuring the impact of the sanitation programme in childhood diarrhea, were selected from 24 small areas of the city without sanitation measurements. Standardized questionnaires were applied to the child's guardian between 1997 and 2003 and included demographic and social data collection and observation of the home environment (Strina et al. 2003). In 2005 they were invited to participate in the SCAALA programme (Social Changes, Asthma and Allergies in Latin America; see Barreto et al, 2006 for details), to study risk factors for asthma and allergic diseases. The demographic and allergic disease data were collected using an adapted Phase II ISAAC questionnaire, translated to Portuguese, applied to the children parents or guardians. Some the children lacking complete data for all studied variables and exams performed were withdrawn from the study. Informed consent was obtained from the children parents or guardians and ethical approval was granted by the Instituto de Saúde Coletiva at Universidade Federal da Bahia and the National Commission on Ethics in Research (CONEP), Brazil.

### **Definitions of outcomes**

Atopy was defined with a positive result in skin prick test to any allergen tested or with a positive result of serum specific IgE antibodies to any tested allergens. Asthma was defined as history of wheezing in the last 12 months associated with one of following variables: wheezing after exercise;  $\geq 4$  episodes of wheezing in the last 12 months and wake up with wheezing in the last 12 months. Atopic asthma was defined by asthma associated with atopy. Parental asthma was defined if one of parents had history of asthma in life.

### **Skin prick test**

Skin prick tests were performed on the right forearm of children using *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis*, *B. germanica*, *Periplaneta americana*, dog epithelium, cat epithelium and fungus mix (*Aspergillus amstelodami*, *A. fumigatus*, *A. niger* e *A. terreus*,

*Penicillium brevicompactum*, *P. expansum*, *P. notatum* e *P. roqueforti*, *Cladosporium fulvum* e *C. herbarum*) extracts from ALK-Abelló (São Paulo, Brazil). The extracts were introduced using a disposable lancet (ALK-lancet®; ALK-Abelló, São Paulo, Brasil). The negative and positive controls were respectively saline and histamine at 10.mg/mL. Lecture was done after 15 minutes of the puncture. The result of a test was considered positive if the mean diameter of the wheal was  $\geq 3$  mm, after subtraction of the negative control wheal.

### **Detection of anti-aeroallergen IgE antibodies**

The specific anti-allergen IgE were measured in the children sera using the Pharmacia Immucap System, IgE FEIA (Pharmacia, Upsala, Sweden) according to the manufacturer's instructions. The results, expressed in kU/L, were obtained through a standard curve produced by serial dilution of human IgE, calibrated against the World Health Organization standard for IgE (standard WHO 75/502). One kU/L of IgE corresponds to 2,4 ng/mL. It was considered positive, serum samples containing 0,35 or more kU IgE/L.

### **Parasite identification**

Two fecal samples collected three to days seven days apart were analysed by a sedimentation method (Hoffman et.al., 1934) and by the Kato-Katz thick-smear technique (Katz, 1972) for the presence and numbers of helminth eggs (*Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, hookworms and *Schistosoma mansoni*). Because only a few children were infected with *S. mansoni* and hookworms and the methods used were not appropriated for *E. vermicularis*, detecting only a few infections, these parasites were not considered in the analysis.

### **Dust collection and allergen concentration measurements**

The dust samples were obtained according to previously described method (Baqueiro et al, 2006) Briefly, dust collection was carried out using a residential vacuum cleaner of 1200 watts (Eletrolux, São Paulo, Brazil) containing a polystyrene filter of 25  $\mu$  m pore size, from an area of 1m<sup>2</sup> from the up part of the mattresses for 2 minutes. The filters were weight before and after collection of dust samples and the thick dust were discard using a forceps. Following, a 100 mg dust sample for each child bed was diluted in 1,0 mL of phosphate buffered saline, pH 7.4 (PBS), containing 0,12% of sodium azide and homogenized for 2



hours at room temperature. The solution was centrifuged for 20 minutes at 3500g, at 4°C and 600µ L of supernatant was added to an equal volume of glycerin, carefully homogenized and this final solution was stored at -70°C until use.

The Der p 1, Blo t 5, Bla g 2, Can f 1 and Fel d 1 allergens were quantified by capture ELISA, using commercially available kits (Indoor Biotechnologies, Virginia, USA), following manufacture protocols (<http://www.inbio.com/protocols.html>). Allergen concentration was expressed in microgram per gram of dust (µ g/g). The concentrations of allergens were grouped into categories, using the low limit of detection point of the 4-PL concentration curve and threshold for sensitization described in literature for each allergen: for Der p 1, Blo t 5 and Can f 1: (1) < 0,39 µ g/g (2) ≥ 0,39 to 2 µ g/g and (3) ≥ 2 µ g/g; for Fel d 1: (1) < 0,12 µ g/g (2) ≥ 0,12 to 1 µ g/g and (3) ≥ 1 µ g/g; for Bla g 2: (1) < 0,15 µ g/g; (2) > 0,15 µ g/g. Since there is no consensus in literature on Blo t 5 cut-offs, for this allergen, it was use the same categories used for Der p 1. To describe the allergen frequencies, it was used a low cut-off for sensitization, and a high cut-off for asthma symptom, described in the literature (Platts-Mills & de Wecker, 1989; Leaderer et al, 2002; Gruchalla et al, 2005; Celledon et al, 2007) and an arbitrary medium cut-off with concentration corresponding with half of high cut-off.

### **Statistical analyses**

The exclusion criterion for statistical analyses was the missing data on any of the variables used in the analysis. For skin prick test a positive result using saline or a negative result using control positive (histamine). The use of anti-allergic mattresses it was another exclusion criterion.

The concentrations of the allergens were expressed in micrograms per gram of fine bed dust. Data were categorized according to the reading of optical density and the result given by the curve of concentration. The group where the optical density was below the blank of the ELISA plate, which had only the reagents and no sample, were considered as not exposed to allergens, the group has achieved optical density between the negative control and the lower limit of detection the concentration curve (using the 4-parameter logistic method; 4PL) were considered as having concentrations of allergen equivalent to half the values of the

lower limit of detection of the curve. The group with results above the upper limit the concentration curve was considered as the largest value of the limit curve. Allergen exposure was categorized into 3 categories as described above.

Chi square test was used to compare the frequency of study variables between those included in the analysis and those excluded.

The association between each study variable (allergen exposure) and the outcomes (SPT reactivity, positive specific IgE or asthma symptoms) was assessed with odds ratio and 95% confidence intervals, which was estimated with standard logistic regression. We present crude (bivariate) and adjusted (multivariate) analyses using the following potential confounding factors: a. for sensitization: age, sex, maternal schooling, whether attended day-care centers, number of rooms at home, parental asthma, helminth infections; b. for asthma: age, sex, maternal schooling, number of rooms at home, parental asthma and presence of smoker at home. All analysis was done using the Statistical Package for the Social Sciences program software version 12.

## RESULTS

### Study population characteristics

The mean age of the studied population was 6,73 ( $\pm$  1,67) years-old, 54,1% of children were boy, 13,4% had parental asthma; 32,5% was infected with any helminthes. Forty-nine point two percent (49,2%) of the children were sensitized to at least one of the tested allergens and 30,3% had a positive SPT to at least one of the tested allergens. In general, *B. tropicalis* extract induced highest sensitization in these children (44,8% for serum IgE and 22,0% for SPT), followed by *D. pteronyssinus* (29,3% for serum IgE and 16,1% for SPT). For *B. germanica* and *P. americana* the prevalence of sensitization using serum IgE it was 21,9% and 15,1%, while reactivity to SPT it was 7,9% and 13,5%, respectively. The SPT reactivity for dog and cat epithelia and fungi were 1,0%, 0,9% and 0,6%, respectively (Table 1). Asthma symptoms were present in 22.8% of the children. There were no differences between the excluded and included children for the above mentioned characteristics (Table 1). In 54,3% of children, their mothers had low education degree (below or incomplete primary course). There were 27,4% of smokers at the children's homes (data not showed).

### Allergen exposure

The allergens Der p 1, Can f 1, Fel d 1 (89,2) and Blo t 5 were detectable in the children beds in high frequencies (above 50%): 89,5%, 77,1%, 74,7% and 58,8% respectively. Bla g 2 was found in only 24,1% of the children beds. However in the low cut-off for allergens, only Der p 1 was above 20% (23,0%), Can f 1 (13,0%), Fel d 1 (12,4%) and Blo t 5 (8,1%) was below than fifteen percent. The Bla g 2 allergen was not detectable in this low cut-off or higher concentrations. Using arbitrary cut-off (medium cut-off), the frequency profile didn't change, with Der p 1 (7,9%), Can f 1 (6,6%), Fel d 1 (4,2%) and Blo t 5 (1,3) allergen. In the high cut-off, we found just Der p 1 and Can f 1 allergens with 3,3% both, and Blo t 5 with only 0,4% of frequency in this level (Table 2).

### **Allergen exposure and sensitization**

The associations between exposure and atopy were analyzed only for Der p 1, Blo t 5 and Bla g 2 once the skin reactivity for dog and cat epithelia was very low, 1,0% and 0,8% respectively, and specific IgE were not measured to these. No association was found between exposure to Der p 1, Blo t 5 and Bla g 2 and skin reactivity to *D. pteronyssinus*, *B. tropicalis* and *B. germanica* extracts, but a positive association was found between children positive for serum specific IgE with Der p 1 with concentration in their beds between 0,39 and 2,0 $\mu$  g/g (Adjusted OR: 1.77; 95% CI: 1.08;2.92) and concentrations  $\geq$  2  $\mu$  g/g (Adjusted OR: 1.82; 95% CI: 1.05;3.14) compared with group below lower limit detection curve (Table 3).

### **Allergen exposure and asthma**

We found a negative association between asthma and presence of Fel d 1 allergen in the children bed  $\geq$  1  $\mu$  g/g (OR: 0.55; 95% CI: 0.31-0.98), but this effect didn't remain after adjustment (Adjusted OR:0.59; 95% CI: 0,32-1.06) for potential confounders (Table 4) .

## **DISCUSSION**

The relation between allergens exposure and sensitization or asthma depends on environmental and genetic factors that affect the local population and up to now, the reports on this subject are controversial. In this study it was used to methods for detecting the occurrence of sensitization (SPT and specific IgE anti-aeroallergens) and it was measured the concentrations of indoor aeroallergens in the studied children' beds. Our findings showed that although the frequencies of the allergens were high, according with other studies (Leaderer et

al, 2002; Litonjua et al, 2002), but their frequencies in higher concentrations were low, and below the cut-off levels for triggering asthma symptoms, reported in the literature. These levels of allergen concentration were lower than those reported in the literature (Leaderer et al, 2002; Gruchalla et al, 2005; Celledon et al, 2007) even of a work from our group where it measured allergens from adult beds, using the same reagents used in this present work (Baqueiro et al, 2006). A hypothesis that came forward was that bed from children would have less dust and allergens than adult bed. However, Litonjua and collaborators, 2002, found higher allergen concentration in children bed with median age of 2,87 years. However these work were carried out in children living in cold temperature country. We supposed that the presence of curtains, carpets and wool linen in their rooms, and the absence of ventilation of rooms may accumulate more allergens than beds from houses of tropical countries, where the rooms are ventilated and lack the material stated above which are known dust mite concentrators. Furthermore it was observed in this work, that many of the children bed were covered by plastic to protect the mattresses from child urination during the night.

Our results showed that *D. pteronyssinus* allergen (Der p 1) had the highest frequency as well as the highest concentration in the children beds, although the children sensitization with *B. tropicalis* extract was higher than with *D. pteronyssinus* extract. Furthermore, the study of our group, that analyses the mite fauna with microscopic observation showed that *B. tropicalis* was the more frequently mite found in bed dust although, the concentration of Blo t 5 in their bed dust were also smaller than the concentration of Der p 1 (Baqueiro et al, 2006), Together these reports suggest that the immunoassay to detect *B. tropicalis* allergen has low sensibility. In fact, Yi and collaborators (2005), comparing the same kit from Indoor Technologies Company which uses monoclonal antibodies binding to biotin with a assay using polyclonal antibody binding to biotin to replace monoclonal antibody, found that this later assay had more sensibility maybe because the polyclonal antibody can to recognized some isoforms of native allergen. Another possibility for the low sensitivity of the assay is that Blo t 5 is not well represented in the mite body. Up to know the role of this molecule as well as its amount in the mite body is not known. In this way, monoclonal antibodies against other targets of *B. tropicalis* must be added to this assay to increase its performance.

Although high frequencies of the cat (Fel d 1) and dog (Can f 1) allergens detectable in children beds, in high concentrations of these allergens this didn't occur compared with other countries like Sweden and EUA (Munir et al, 1997; Salo et al, 2008), probably due to

different lifestyles of the studied populations. In temperate countries these animals stay more time inside the houses, increasing the concentration of its allergens. In relation to the cockroach allergen studied (Bl a g 2) its low frequency was explained for low presence of this insect in beds (Perry et al, 2006).

In present study, we found a positive association only between *D. pteronyssinus* allergen (Der p 1) levels and serum specific IgE. This association may be strengthened by its biological enzymatic cysteine protease activity, leading to pro-inflammatory effects, such as: cleavage low affinity IgE receptors (CD23) in lymphocytes affecting the IgE effector function, cleavage of a IL-2 subunit receptor (CD25) in T lymphocytes, reducing its proliferation and IFN- $\gamma$  production, increasing the production of IL-4 and decreasing IL-12 expression in dendritic cells (Sharma et al, 2003; Ghaemmaghmi et al, 2002, Schulz et al, 1998). However, this association could not be observed in skin reactivity, probably because detection of serum IgE sensitization takes into account a smaller number of factors than skin prick test, that is an specific measurement of mast cell effect, which depends on cross-linking between allergen molecule and two adjacent specific IgEs binding to Fc $\epsilon$  R1, which can be affected by other factors like blocking antibodies, saturation of mast cells Fc $\epsilon$  R1 receptors by polyclonal IgE, immuno-modulation by helminthes and other possible factors that in not the aim of this study (Yazdanbakhsh et al. 2002; Cooper et al, 2004, outros autores). So, the exposure to indoor allergens may be important in development of the Th2 response and production of IgE observed in allergic reactions but, this finding maybe lost if one analyzes just considering the effect of skin mast cell degranulation given by the skin prick test.

In the case of the asthma, the Der p 1 enzymatic effect has been shown to enhance the production of IgE and a direct action upon the bronchial epithelium, promoting airways inflammation (Sharma et al, 2003). However, we didn't found association between Der p 1 exposure and asthma, in agreement with other study of our group in Salvador (Baqueiro et al, 2006). The possible explanation for this study results was that a few beds had Derp 1 present in the cut-off concentration for triggering asthma symptoms (high cut-off), so the quantity of allergen necessary to observe these effects was not reached in the majority of children.

For the Blo t 5 allergen although we didn't found any association between its exposure and sensitization and asthma, the high prevalence rate of sensitization (skin and serum sensitization) by *B. tropicalis* extract indicate that this mite as important risk factor for sensitization in these children, but the assay for detection of this allergen in beds used was not

useful to show this association.

It was not found in this work any association between exposure to allergens and asthma. Probably this lack of association it must be in consequence of low levels of allergens necessary to triggering asthma symptoms found in this study.

## REFERENCES

- BAQUEIRO, T.; CARVALHO, F.M.; FREITAS-RIOS, C.; dos SANTOS, N.M.; ALCANTARA-NEVES, N.M. Dust mite species and allergen concentrations in beds of individual belonging to different urban socioeconomic groups in Brazil. **J Asthma**. 43(2):101-105, 2006.
- BRUSEE JE, SMITH HA, van STRIEN RT, CORVER K, KERKHOF M, WIJGA AH, AALBERSE RC, POSTMA D, GERRITSEN, GROBBEE DE, JONGSTE JC, BRUNEKREEF B. Allergen exposure in infancy and the development of sensitization, wheeze, and asthma at 4 years. **J Allergy Clin Immunol**. 115(5):946-952, 2005.
- CAMARA, A.A.; SILVA, J.M.; FERRIANI V.P.L.; TOBIAS, K.R.C.; MACEDO, I.S.; PADOVANI, M.A.; HARSÍ, C.M.; CARDOSO, M.R.A.; CHAPMAN, M.D.; ARRUDA, E.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; ARRUDA, L.K. Risk factors for wheezing in a subtropical environment: Role of respiratory viruses and allergen sensitization. **J Allergy Clin Immunol**. 113:551-7, 2004.
- CELLEDON, J.C.; MILTON, D.; RAMSEY C.D.; LITONJUA A.A.; RYAN L.; PLATTS-MILLS, T.A.E; GOLD, D.R. Exposure to dust mite allergen and endotoxin on early life and asthma and atopy in childhood. **J Allergy Clin Immunol**. 120:144-9, 2007.
- COOPER, P.J.; CHICO, M.E.; RODRIGUES, L.C.; ORDONEZ, M.; STRACHAN, D.; GRIFFIN, G.E.; NUTMAN, T.B. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. **J Allergy Clin Immunol**. 111:995-1000, 2003.
- CUSTOVIC A, SIMPSON BM, SIMPSON A, HALLAN CL, MAROLIA H, WALSH D,

CAMPBELL J, WOODCOCK A, and Manchester Asthma and Allergy Study Group. Current mite, cat, and dog allergen exposure, pet ownership, and sensitization to inhalant allergens in adults. **J Allergy Clin Immunol.** **111**:402-7, 2003.

DEVENNY A, WASSAL H, NINAN T, OMRAN M, KHAN SD, RUSSEL G. Respiratory symptoms and atopy in children in Aberdeen: questionnaire studies os a defined school population repeated over 35 years. **BMJ**, **329**:489-490, 2004.

GHAEMMAGHAMI, A.M.; GOUGH, L.; SEWELL, H.F.; SHAKIB, F. The proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 conditions dendritic cells to produce less interleukin-12: allergen-induced Th2 bias determined at the dendritic cell level. **Clin Exp Allergy.** **32(10)**:1468-1475, 2002.

HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico J. publ. Health.** **9**:281-298, 1934.

KATZ ,N. A device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo.****14(6)**:397-400,1972.

LEADERER, B.P.; BELANGER, K.; TRICHE, E., HOLFORD, T.; GOLD, D.R.; KIM, Y.; JANKUN, T.; REN, P.; McSHARRY, J.E.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; CHAPMAN, M.D., BRAKEN, M.B. Dust mite, cockroach, cat, and dog allergen concentrations in homes of asthmatic children in the northeastern United States: Impact of socioeconomic factors and population desnsity. **Environ Health Perspect.** **110**:419-425, 2002.LITONJUA, A.A.; MILTON, D.K.; CELEDON, J.C.; RYAN, L.; WEISS S.T.; GOLD, D.R.; A longitudinal analysis of wheezing in young children: The independent effects of early life exposure to house dust endotoxin, allergens, and pets. **J Allergy Clin Immunol.** **110**:736-42, 2002.

MEDEIROS-JÚNIOR, M.; FIGUEIREDO, J.P.; ALMEIDA, M.C.; ATTA, A.M.; TAKETOMI, E.A.; SILVA, D.A.O.; TERRA, A.S.; AMORIM, W.W.; PINHO, R.S.; ARAÚJO, M.I.; CARVALHO, E.M. Association between mite allergen (Der p 1, Der f 1, Blo t 5) levels and microscopic identification of mites or skin prick test results in

asthmatic subjects. **Int Arch Allergy Immunol.** **129**:237-241, 2002.

MUNIR, A.K.M.; KJELLMAN, M.; BJÖRKSTEN, B. Exposure to indoor allergens in early infancy and sensitization. **J Allergy Clin Immunol.** **100**:177-181, 1997.

NICOLAOU N, YIALLOUROUROS P, PIPIS S, SIMPSON A, CUSTOVIC A. Domestic allergen and endotoxin exposure and allergic sensitization in Cyprus. **Pediatr Allergy Immunol.** **17**:17-21, 2006.

PAWANKAR, R.; OKUDA, M.; YSSEL, H.; OKUMURA, K.; RA, C. Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increase expression of the Fcε R1, CD40L, IL-4 and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. **J Clin Invest.** **99**:1492-1499, 1997.

PERRY, T.T.; WOOD, R.A.; MATSUI, E.C.; CURTIN-BROSNAN, J.; RAND, C.; EGGLESTON, P.A. Room-specific characteristics of suburban homes as predictor of indoor allergen concentrations. **Ann Allergy Asthma Immunol.** **97**:628-635, 2006.

PLATTS-MILLS TAE, VERVLOEF D, THOMAS WR, AALBERSE RC, CHAPMAN MD. Chairmen. Indoor allergens and asthma: Report of the Third International Workshop. **J Allergy Clin Immunol.** **100**:S1-S24, 1997.

PLATTS-MILLS, T.A.E.; de WECK, A.L. Chairmen. Report of the meeting: Mite allergy a worldwide problem. Workshop, Bad Kreuznach. 1987, 3-12. **J Allergy Clin Immunol.** **83**:416-427, 1989.

SALO, P.M.; ARBES, S.J.; CROCKETT P.W.; THORNE P.S.; COHN, R.D.; ZELDIN D.C. Exposure to multiple indoor allergens in US homes and its relationship to asthma. **J Allergy Clin Immunol.** **121**:678-84, 2008.

SALO, P.M.; ARBES, S.J.; CROCKETT P.W.; THORNE P.S.; COHN, R.D.; ZELDIN D.C. Exposure to multiple indoor allergens in US homes and its relationship to asthma. **J Allergy Clin Immunol.** **121**:678-84, 2008.



- SCHULZ, O.; SEWEL, H.F.; SHAKIB, F. Proteolytic cleavage of CD25, the alpha subunit of the human T cell interleukin 2 receptor, by Der p 1, a major mite allergen with cysteine protease activity. **J Exp Med.** **187**:271-275, 1998.
- SERRAVALLE, K.; MEDEIROS-JUNIOR, M. Ácaros na poeira domiciliar na cidade de Salvador – Bahia. **Rev Bras Alerg Imunopatol.** **22(1)**:19-24, 1999.
- SHARMA, S.; LACKIE, P.M.; HOLGATE, S.T. Uneasy breather: the implications of dust mite allergens. **Clin Exp Allergy.** **33**:163-165, 2003.
- SOLÉ D, WANDALSEN GF, CAMELO-NUNES IC, NASPITZ CK, ISSAC-Grupo Brasileiro. Prevalence of symptoms os asthma, rhinitis, and atopic eczema among Brazilian children and adolescents identified by International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) - Phase 3. **J Pediatr,** **82(5)**:341-6, 2006
- SPIVACKE, C.A.; GROVE, E.F. Studies in hypersensitiveness XIV:a study of the atopen in house dust. **J Immunol,** **10**:465, 1924.
- SPORIK, R.; HOLGATE, S.T.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; COGSWELL, J.J. Exposure to dust mite allergen (*Der p 1*) and the development of asthma in childhood. **New England Journal of Medicine.** **23**:502-507, 1990.
- SPORIK, R.; INGRAM, J.M.; PRICE, W.; SUSSMAN J.H.; HONSINGER R.W.; PLATTS-MILLS, TAE. Association of asthma with serum IgE and skin test reactivity to allergens among children living at high altitude: Tickling the Dragon's breath. **Am J Respir Crit Care Med.** **151**:1388-1392, 1995.
- VOORHORST, R.; SPIEKSMAN, F.T.M.; VAREKAMP, H.; LEUPEN, M.J.; LYKLEMA, A.W. The house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) and the allergens it produces: identity with the house dust allergen. **J Allergy.** **39(6)**:325, 1967.

[YAZDANBAKHSH M](#), [KREMSNER PG](#), [VAN REE R](#). Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. [Science](#). 296:490-5, 2002.

YI, F.C.; LEE, B.W.; CHEONG, N.; CHUA, K.Y. Quantification of Blo t 5 in mite and dust extracts by two-site ELISA. [Allergy](#). **60**:108-112, 2005.

YI, F.C.; SHEK, L.P.; CHEONG, N.; CHUA, K.Y.; LEE, B.W. Molecular cloning of *Blomia tropicalis* allergens—a major source of dust mite allergens in the tropics and subtropics. [Inflamm Allergy Drug Targets](#). **5(4)**:261-6, 2006.

#### **ACKNOWLEDGMENTS**

This study was conducted through the SCAALA (Social change, Asthma and Allergy in Latin America) initiative, funded by the WELLCOME TRUST, Grant No. 072405/Z/03/Z.

**Table 1 – Population characteristics and skin prick test, serum specific IgE and asthma symptoms prevalence**

<b>Variables</b>	<b>Total population N=1445</b>	<b>Excluded population N=385</b>	<b>Studied population N=1060</b>	<b>P Chi<sup>2</sup></b>
<b>Sex - Male - n (%)</b>	772 (53,4)	199 (51,7)	573 (54,1)	0,425
<b>Age - Mean (SD) in years</b>	6,73 (1,70)	6,73 (±1,78)	6,73 (±1,67)	0,942
<b>Parental asthma - n (%)</b>	197 (13,6)	55 (14,3)	142 (13,4)	0,425
<b>Skin prick test - n (%)</b>				
≥ 1 alérgeno	421 (29,1)	100 (26,0)	321 (30,3)	0,994
<i>B. tropicalis</i>	301 (20,8)	68 (17,7)	233 (22,0)	0,631
<i>D. pteronyssinus</i>	218 (15,1)	47 (12,2)	171 (16,1)	0,433
<i>P. americana</i>	195 (13,5)	52 (13,5)	143 (13,5)	0,282
<i>B. germanica</i>	112 (7,8)	28 (7,3)	84 (7,9)	0,722
Dog epithelium	15 (1,0)	4 (1,0)	11 (1,0)	0,781
Cat epithelium	11 (0,8)	1 (0,3)	10 (0,9)	0,475
Fungi	6 (0,4)	0	6 (0,6)	0,346
<b>Serum IgE - n (%)</b>				
≥ 1 alérgeno	671 (46,4)	149 (38,7)	522 (49,2)	0,977
<i>B. tropicalis</i>	605 (41,9)	130 (33,8)	475 (44,8)	0,556
<i>D. pteronyssinus</i>	389 (26,9)	78 (20,3)	311 (29,3)	0,221
<i>B. germanica</i>	295 (20,4)	63 (16,4)	232 (21,9)	0,683
<i>P. americana</i>	200 (13,8)	40 (10,4)	160 (15,1)	0,423
<b>Asthma symptoms - n (%)</b>	326 (22,6)	84 (21,8)	242 (22,8)	0,722
<b>Helminth infection – n (%)</b>	453 (31,3)	108 (28,1)	345 (32,5)	0,740

**Table 2 – Frequency of allergens in dust of children’s bed using different cut-offs**

<b>Allergen N=1190</b>	<b>Concentration (<math>\mu</math> g/g)</b>	<b>n (%)</b>
<b>Lower detection limit</b>		
Der p 1	0,39	949 (89,5)
Can f 1	0,39	817 (77,1)
Fel d 1	0,12	792 (74,7)
Blo t 5	0,39	623 (58,8)
Bla g 2	0,15	255 (24,1)
<b>* Low cut-off (<math>\mu</math> g/g)</b>		
Der p 1	2,0	249 (23,5)
Can f 1	2,0	138 (13,0)
Fel d 1	1,0	131 (12,4)
Blo t 5	2,0	86 (8,1)
Bla g 2	----	----
<b>**Medium cut-off (<math>\mu</math> g/g)</b>		
Der p 1	5,0	84 (7,9)
Can f 1	5,0	70 (6,6)
Fel d 1	4,0	44 (4,2)
Blo t 5	5,0	18 (1,3)
Bla g 2	----	----
<b>***High cut-off (<math>\mu</math> g/g)</b>		
Der p 1	10,0	35 (3,3)
Can f 1	10,0	35 (3,3)
Blo t 5	10,0	4 (0,4)
Fel d 1	----	----
Bla g 2	----	----

\*Sensitization; \*\*Arbitrary cut-off, \*\*\*Asthma symptoms

**Table 3 – Adjusted odds ratio of association between allergen exposure with SPT and Serum IgE presence in children**

Allergens categorized levels ( $\mu$ g/g)	SPT $\geq 3$ mm		Serum IgE $\geq 0,35$ kU/L	
	Yes / no	#Adjusted OR ( IC 95%)	Yes / no	#Adjusted OR (IC 95%)
<b>Der p 1</b>				
<0,39	16/95	1.00	22/89	1.00
$\geq 0,39$ a 2,0	109/591	1.10 (0.62;1.95)	<b>212/488</b>	<b>1.77</b>
$\geq 2,0$	46/203	1.35 (0.72;2.53)	<b>77/172</b>	<b>(1.07;2.92)</b> <b>1.82</b> <b>(1.05;3.14)</b>
<b>Blo t 5</b>				
<0,39	96/341	1.00	187/250	1.00
$\geq 0,39$ a 2,0	118/419	0.99 (0.73;1.36)	257/280	1.24
$\geq 2,0$	19/67	0.99 (0.56;1.76)	31/55	(0.96;1.61) 0.77 (0.47;1.26)
<b>Bla g 2</b>				
<0,15	173/632	1.00	171/634	1.00
$\geq 0,15$	60/195	1.15 (0.69;1.92)	61/194	1.14 (0.81;1.61)

# Multivariate regression adjusted for: sex, age, maternal education degree; frequent day-care centers, number of rooms at home, helminth infection, parental asthma.

**Table 4 – Odds ratio of association between allergen exposure with asthma in 1060 children**

Allergens categorized levels ( $\mu$ g/g)	Asthma			
	No	Yes	#OR (IC 95%)	## Adjusted OR (IC 95%)
Der p 1				
<0,39	87	24	1.00	1.00
$\geq 0,39$ a 2,0	545	155	1.03 (0.63;1.67)	1.03 (0.62;1.70)
$\geq 2,0$	186	63	1.22 (0.71;2.09)	1.37 (0.79;2.39)
Blo t 5				
<0,39	330	107	1.00	1.00
$\geq 0,39$ a 2,0	416	121	0.89 (0.66;1.20)	0.92 (0.68;1.26)
$\geq 2,0$	72	14	0.60 (0.32;1.10)	0.60 (0.32;1.13)
Can f 1				
<0,39	187	56	1.00	1.00
$\geq 0,39$ a 2,0	523	156	0.99 (0.70;1.41)	1.10 (0.76;1.57)
$\geq 2,0$	108	30	0.92 (0.56;1.53)	1.16 (0.69;1.97)
Fel d 1				
<0,12	208	60	1.00	1.00
$\geq 0,12$ a 1,0	497	164	1.14 (0.81;1.60)	1.12 (0.79;1.59)
$\geq 1,0$	113	18	<b>0.55 (0.31;0.98)</b>	0.59 (0.32;1.06)
Bla g 2				
<0,15	615	190	1.00	1.00
$\geq 0,15$	203	52	0.82 (0.58;1.17)	0.86 (0.60;1.23)

#Bivariate logistic regression; ##Multivariate logistic regression, adjusted for: sex, age, maternal education degree, number of rooms at home, smoker at home and parental asthma.

**ANEXO A – Termo de consentimento livre e esclarecido****INSTITUTO DE SAÚDE COLETIVA e FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

**PROJETO:** Fatores de risco para asma e doenças alérgicas, e perfil imunológico em crianças na cidade de Salvador

Nome da criança: \_\_\_\_\_ REG: \_\_\_\_\_

***Consentimento Informado***

Pesquisadores da Universidade Federal da Bahia estão realizando um estudo sobre ASMA E ALERGIA na cidade de Salvador. O objetivo do estudo é saber a proporção de crianças com asma e alergia e estudar a causa dessas doenças. Seu(sua) filho(a) acima mencionado foi selecionado para participar do estudo, porém para isto é necessário que o(a) Senhor(a), como responsável pela criança acima, dê o seu consentimento para que as seguintes atividades sejam realizadas:

- 2 Que o senhor(a) responda um **questionário** sobre asma e alergia na criança.
  
- 3 Permita que se faça um exame na criança para saber se é alérgica. Nesse teste (chamado teste cutâneo) pequenas injeções serão dadas no braço da criança e se procurará ver se ela desenvolve uma vermelhidão no lugar da injeção. Se a vermelhidão aparecer, isso quer dizer que a criança tem alergia. O teste dura em torno de 30 minutos e será feito por um médico qualificado.
  
- 4 Permita que se faça coleta de uma amostra de sangue da criança que será usado também para saber se a criança tem alergia a ácaros e barata, se tem anemia, já teve infecção por vírus da hepatite A, *Toxocara canis*, *Toxoplasma gondii*, *Ascaris lumbricoides* e para saber o seu estado imunológico (interleucinas Il-4, Il-5, Il-10 e IFN-

gama).

5 Nos forneça duas amostras de fezes da criança para exame parasitológico para saber se a criança tem vermes.

6 Permita que seja medida a altura e peso da criança.

7 Permita que se faça coleta de poeira no leito onde a criança dorme, para saber que tipo de poeira existe na casa e se pode causar alergia.

8 Que o(a) Senhor(a) responda um questionário sobre características do quarto e leito onde a criança dorme, a ser aplicado no momento da coleta de poeira do leito da criança.

9 Permita que o soro que será utilizado para realizar os exames deste estudo, caso não seja todo utilizado, possa ser guardado para ser utilizado no futuro na realização de outros exames que porventura sejam necessários para maior esclarecimento sobre as doenças estudadas.

Toda informação obtida através do questionário ou dos exames é estritamente confidencial e o seu nome ou do(a) seu(sua) filho(a) não aparecerá em nenhuma parte do relatório ou publicação deste estudo.

Todos os resultados do exame serão entregues. A amostra de sangue será encaminhada para um laboratório e os exames são demorados, os resultados não são liberados no mesmo dia. Se a criança tiver algum verme forneceremos a orientação e os medicamentos para o tratamento gratuitamente. Se a criança estiver desnutrida ou com peso acima do normal receberá orientação sobre a dieta apropriada. Se a criança tiver asma ou alergia, marcaremos um dia para a criança ser vista por médico no ambulatório no Hospital das Clínicas no Canela, e vocês receberão passe de ônibus para duas pessoas ida e volta. Caso necessário toda orientação será dada para que ela tenha acesso ao melhor tratamento possível.



**Devemos enfatizar que a participação na pesquisa é voluntária e o Sr.(a) pode retirar o seu filho a qualquer momento.**

Qualquer problema contatar: Dr. Sérgio Souza da Cunha, Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Rua Padre Feijó 29/4o. andar, Canela, telefone 245-0544, email: [cunhass@ufba.br](mailto:cunhass@ufba.br) .

Declaro estar ciente do que se trata a pesquisa **Fatores de risco para asma e doenças alérgicas, e perfil imunológico em crianças na cidade de Salvador**, confirmando os itens abaixo.

Pergunta	Resposta	Assinatura do Responsável
Aceita responder o <b>questionário</b> ?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Aceita que a criança faça o <b>teste cutâneo</b> ?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Aceita que seja coletada uma <b>amostra de sangue</b> da criança para realização dos testes acima especificados?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Aceita que seja coletada amostra de fezes da criança?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Aceita que seja coletada <b>poeira</b> na casa?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Aceita que seja medido <b>peso e altura</b> ?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Aceita que o soro possa ser guardado, sujeito ao seu consentimento para novos exames além do acima especificado?	SIM – ( )	
	NÃO – ( )	
Responsável <b>não aceitou</b> participar da pesquisa	( )	

Salvador, ..... de ..... de 2005

Assinatura do/a Pesquisador/a: \_\_\_\_\_

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)