

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

LETÍCIA SOARES TAVARES MORAIS

AVALIAÇÃO CLÍNICO – LABORATORIAL DO USO DA
TARTRAZINA EM PACIENTES ATÓPICOS: AMOSTRA AMPLIADA

Niterói - RJ

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

AVALIAÇÃO CLÍNICO – LABORATORIAL DO USO DA TARTRAZINA EM PACIENTES ATÓPICOS: AMOSTRA AMPLIADA

Letícia Soares Tavares Moraes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Área de Concentração: Ciências Médicas

Orientador: Professor Dr Luiz Querino de Araújo Caldas MD/PhD

Niterói - RJ

2010

LETÍCIA SOARES TAVARES MORAIS

AVALIAÇÃO CLÍNICO – LABORATORIAL DO USO DA
TARTRAZINA EM PACIENTES ATÓPICOS: AMOSTRA AMPLIADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Área de Concentração: Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra Luciana de Barros Duarte – UFF

Prof.

Prof.

Prof.

Niterói - RJ

2010

EPÍGRAFE

“Portanto, quem ouve essas minhas palavras e as põe em prática, é como o homem prudente que construiu sua casa sobre a rocha. Caiu a chuva, vieram as enxurradas, os ventos sopraram com força contra a casa, mas ela não caiu, porque fora construída sobre a rocha. Por outro lado, quem ouve essas minhas palavras e não as põe em prática, é como o homem sem juízo, que construiu sua casa sobre a areia. Caiu a chuva, vieram as enxurradas, os ventos sopraram com força contra a casa, e ela caiu, e a sua ruína foi completa!” (Mateus, 7,24).

À minha tia Vera e aos meus avós Idalina e Heraclides que certamente estão orgulhosos. E aos meus pais, a quem devo tudo o que me tornei.

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradeço a Deus, por tudo.

A minha família e ao Bernardo por todo apoio, paciência e compreensão.

Aos meus pais, por estarem sempre ao meu lado me incentivando, me ensinando e ajudando a tornar os sonhos possíveis. Aos meus queridos irmãos Felipe e Ernani que me incentivam sempre andar para frente.

A minha tia Fátima, a quem admiro e em quem me espelhei profissionalmente. Aos meus primos de Curitiba Walter e Gustavo, por sua imensa colaboração muitas vezes fora de hora.

Aos meus tios Ana, Nelmo e meu primo Eduardo, pela constante torcida.

Ao Bernardo, por todo apoio e por tudo que representa na minha vida.

Ao professor e Mestre Luiz Querino, pela habilidosa condução desses dois anos, pelos excelentes ensinamentos e pelas oportunidades acreditando e apostando na minha capacidade de encarar sempre novos desafios.

Ao professor Wilson Santos, grande exemplo e inesquecível mestre, que aos poucos se tornou também um bom conselheiro.

Aos professores Ciro, Moacélio e Eliani Spinelli por despertarem pela primeira vez meu interesse pela toxicologia.

Aos professores do mestrado Gilberto, Solange, Maria Luiza e Guillermo.

A funcionária da secretaria do mestrado Dina sempre muito atenciosa e prestativa.

A toda equipe da pesquisa e do Centro de Pesquisa Clínica, Roseane, Ligia, Fátima, Cristina, e principalmente a farmacêutica Cecília Pascoto e ao enfermeiro Wagner Lobo que se comprometeram muito com o projeto.

A todos meus amigos e familiares que mesmo contrariados me apoiaram e entenderam as minhas ausências.

RESUMO

O corante amarelo tartrazina, FD & C Yellow nº 5 ou INS nº 102, é um azo-corante aprovado pelas autoridades reguladoras do Brasil, dos EUA e da Europa presente em inúmeras drogas e alimentos, com a finalidade de melhorar o aspecto visual e padronizar sua coloração de modo a aumentar sua aceitabilidade e comercialização. Desde a década de 70 muitos casos de sensibilidade à tartrazina foram reportados; estima-se que essa hipersensibilidade ocorre em 0,6 a 2,9% da população, com incidência maior nos indivíduos atópicos ou com intolerância aos salicilatos. A sensibilidade ao corante geralmente se manifesta como asma e urticária, freqüentemente como dermatite de contato e vasculite cutânea. A reação alérgica pode ser diagnosticada por duas diferentes técnicas: indiretamente, com o teste cutâneo, ou diretamente, através do radioalergosorbent test (RAST). O objetivo do presente estudo foi avaliar a segurança do uso do corante Tartrazina, em portadores de rinite alérgica, asma brônquica, urticária ou sensibilidade a antiinflamatórios não-esteróides (AINES). O método utilizado no estudo foi o desafio duplo cego controlado por placebo (DCCP): 77 indivíduos concluíram o desafio, que consistiu em duas etapas. Em uma das etapas ocorreu a exposição à Tartrazina (5mg, 10mg, e 20mg) e, na outra, a exposição ao placebo (5mg, 10mg, e 20mg), com intervalos de 50 minutos entre cada dose. Alguns parâmetros clínicos apresentaram alterações significativas relacionadas à exposição ao corante como: redução do Pico de Fluxo Expiratório, angioedema, congestão nasal, rinorreia, sibilância, rash, prurido cutâneo e urticária. Aproximadamente 5% dos indivíduos apresentaram ainda a elevação dos níveis de IgE tartrazina. Já quanto às aferições da pressão arterial, freqüência cardíaca e respiratória, temperatura axilar, espirro/prurido nasal e tosse, não houve diferença significativa entre as exposições ao placebo e corante. Os resultados sugeriram que a possível reação alérgica induzida pela tartrazina tem participação do sistema imunológico e que se manifesta principalmente com sinais e sintomas na pele, assim como nas vias aéreas, afetando menos ou não interferindo nos parâmetros cardiocirculatórios.

Palavras chave: tartrazina, atopia, hipersensibilidade, alergia, IgE, aditivos.

ABSTRACT

Yellow tartrazine coloring agent, FD & C Yellow No. 5 or E 102, is an approved azo pigment used in many drugs and foods, improving their appearance, standardizing their color, as well as increasing their visual acceptance and marketing. Since the 70's many cases of sensibility to tartrazine have been reported, and scientists estimated that approximately 0.6 to 2.9% of the population is affected by this substance, with a higher incidence in atopic individuals or in those with intolerance to salicylates. The colorant sensibility generally consists in asthma and hives, and frequently in contact dermatitis and cutaneous vasculitis. The allergic reaction can be diagnosed with the use of two different techniques: cutaneous test (direct technique) and radioallergosorbent test - RAST (indirect technique). The aim of this study was to evaluate the safety of tartrazine in an enhanced population sampling. The method was double-blinded and controlled by a placebo (DCCP); 77 individuals finished the test, which consisted in two steps. In one of them the individuals were exposed to tartrazine (5 mg, 10 mg, 20 mg) and in the other one they were exposed to placebo (5 mg, 10 mg, 20 mg) with an interval of 50 minutes between each dose. Some clinical parameters presented significant alterations related to the exposure to the coloring agent, such as reduction of the respiratory peak flow, angioedema, nasal congestion, runny nose, wheezing, rash, cutaneous pruride and hives. Nearly 5% of the individuals also presented an increase in the tartrazine IgE levels. While the measurements of arterial blood pressure, heart and respiratory rate, axillary temperature, sneeze/nose itch and cough did not present significant differences between the exposure group and the placebo. The results suggest that in a possible allergic reaction induced by tartrazine there is participation of the immune system and that this reaction is mainly manifested through skin and airways signals and symptoms.

Key-words: tartrazine, atopy, hypersensitivity, allergy, IgE, additives

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
1.1 Fundamentação Teórica.....	17
1.2 Considerações Regulatórias.....	19
1.3 Estudos Clínicos e Experimentais.....	22
2 Objetivo.....	27
2. Materiais.....	28
3.1 Cápsulas.....	28
3.2 Randomização.....	29
3.3 Análise da IgE Tartrazina.....	30
3.4 Análise de Leucotrieno.....	30
3.5 Pico de Fluxo Expiratório.....	31
4 Métodos.....	32
4.1 Tamanho de amostra.....	32
4.2 Recrutamento.....	32
4.3 Seleção.....	33
4.4 Ensaio Clínico.....	36
4.5 Estatística.....	37
4.6 Exames Laboratoriais.....	38
4.7 Pico de Fluxo Expiratório.....	47
4.8 Teste Cutâneo.....	47
5 Resultados.....	49
6 Discussão.....	70
7 Conclusão.....	79
8 Referências Bibliográficas.....	80
9 Anexos.....	85
Anexo I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	85
Anexo II – Artigo submetido à publicação em periódico.....	86

LISTA DE FIGURAS

	<i>Página</i>
Figura 1: Identificação das cápsulas utilizadas no estudo.....	28
Tabela I – Randomização dos pacientes do estudo.....	29
Figura 2: Aparelho BRIO.....	31
Figura 3: Fluxograma do estudo.....	35
Tabela II – Resumo do procedimento RAST.....	41
Tabela III – Sistema de Escore do RAST.....	41
Tabela IV – Valores Referência para o RAST.....	42
Tabela V – Resumo do procedimento LTE4 EIA Kit.....	46
Gráfico 1: Nº de pacientes por sexo.....	49
Gráfico 2: Nº de pacientes por faixa etária.....	49
Gráfico 3: Comparação da FR entre as semanas.....	51
Gráfico 4: Comparação do PF entre semanas.....	52
Gráfico 5: Comparação do PF com o tempo.....	52
Gráfico 6: Comparação do PF nas etapas A e B com o tempo.....	53
Gráfico 7: Angioedema X Semanas.....	55
Gráfico 8: Angioedema X Etapas.....	55

Gráfico 9: Angioedema X Tempo.....	55
Gráfico 10: Congestão nasal X Etapas.....	57
Gráfico 11: Congestão nasal X Tempo.....	58
Gráfico 12: Rinorréia X Etapas.....	59
Gráfico 13: Sibilância X Etapas.....	60
Gráfico 14: Sibilância X Semanas.....	60
Gráfico 15: Rash Cutâneo X Semanas.....	62
Gráfico 16: Rash X Tempo.....	62
Gráfico 17: Prurido Cutâneo X Etapas.....	64
Gráfico 18: Prurido Cutâneo X Tempo.....	64
Gráfico 19: Urticária X Semanas.....	65
Gráfico 20: Urticária X Etapas.....	66
Gráfico 21: Urticária X Tempo.....	66
Gráfico 22: IgE Tartrazina X Sequência.....	67
Tabela VI–Resumo dos resultados obtidos para IgE alérgeno específica.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

IgE: Imunoglobulina E

PF: Pico de Fluxo Expiratório

TGI: Trato gastrointestinal

DCCP: Duplo Cego Controlado por Placebo

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DL50: Dose letal para 50% da população em estudo

TCEI: Termo de Consentimento Esclarecido e Informado

PAS: Pressão Arterial Sistólica

PAD: Pressão Arterial Diastólica

FC: Frequência Cardíaca

FDA: Food and Drug Administration

FR: Frequência Respiratória

LTE: Leucotrieno

1 INTRODUÇÃO

As indústrias alimentícias e de medicamentos utilizam diversos aditivos em seus produtos com a finalidade de melhorar o aspecto visual do alimento ou medicamento e padronizar sua coloração de modo a aumentar sua aceitabilidade e comercialização. O corante amarelo tartrazina, FD & C Yellow nº 5 ou E 102, é um azo-corante aprovado presente em inúmeras drogas e alimentos (Mary E. Maccara, 1982; Corder et al., 1995; Netis et al., 2003).

Os aditivos químicos permitidos para uso humano são divididos em 23 grupos (Diário Oficial da União de 28/10/1997), dentre os quais os corantes. Um desses aditivos, a tartrazina, corante amarelo largamente utilizado em alimentos e medicamentos, vem sendo alvo de posições conflitantes a respeito de seu potencial para causar efeitos adversos em indivíduos portadores de rinite alérgica, asma, urticária, e de sensibilidade a analgésicos e anti-inflamatórios não-hormonais.

A prevalência de indivíduos normais sensíveis apenas à tartrazina não é conhecida, desde a década de 70 muitos casos de sensibilidade à tartrazina foram reportados, estima-se que essa hipersensibilidade ocorre em 0,6 a 2,9% da população, com incidência maior nos indivíduos atópicos ou com intolerância aos salicilatos.. Possui estrutura química similar à dos benzoatos, salicilatos e indometacina, daí a possibilidade de reações alérgicas cruzadas com esses fármacos. (Corder et al., 1995; Dipalma et al., 1995; Collins et al., 1985; Lockey, 1959; Stevensson et al., 1986; Simon et al., 1993).

A sensibilidade ao corante geralmente se manifesta como asma e urticária, freqüentemente como dermatite de contato e vasculite cutânea. A alergia induzida por alimentos pode provocar vários sintomas afetando a pele, o trato respiratório, o TGI e o sistema cardiovascular. A pele e o sistema respiratório são os mais afetados pelas reações alérgicas induzidas por alimentos mediadas por IgE, enquanto as reações no TGI geralmente não são mediadas por IgE (Sampson et al., 1999).

Os azo-corantes, grupo ao qual pertence a tartrazina, quando ingeridos são absorvidos pelo epitélio intestinal, são metabolizados por azo-redutases elaboradas por microorganismos constituintes da flora intestinal e pelas redutases hepáticas, sendo convertidos em aminas aromáticas. Em seguida é gradativamente eliminado suspeitando-se que algumas reações possam ocorrer em até 72 h após exposição, conforme a sensibilidade individual. (Sasaki et al., 2002).

É importante ainda ressaltar que o aditivo é utilizado em combinação com outros aditivos tornando-se avermelhado com o hidróxido de sódio e verde-limão com corantes azuis (Mary E. Maccara, 1982). Por isso é encontrado em produtos de diversas cores e não apenas nos de coloração amarela; por exemplo, o refrigerante Fanta Uva, suco em pó de limão Tang, gelatina de limão Dr Oetker. Então, é de extrema importância a informação correta sobre os ingredientes dos alimentos nas embalagens.

O corante Tartrazina é uma substância sintética derivado do carbono. Encontra-se na forma de um pó fino, homogêneo, inodoro, de cor laranja amarelado, solúvel em água e muito higroscópico. É largamente utilizada como corante em alimentos como refrigerantes, sucos artificiais (Tampico, Ativ Citrus), balas de goma e chicletes (Bolin Bola), biscoitos (Torcida sabor peperoni), bebidas energéticas (Burn), entre outras; e também nos medicamentos (dipirona gotas).

De acordo com a ficha técnica do fabricante (Plury Química Ltda) a Tartrazina possui impurezas como chumbo, arsênio, intermediários, corantes subsidiários, entre outros, que podem interagir com a tartrazina ou até mesmo provocar as reações alérgicas.

Tendo em vista o estudo de Corder E.H. et al (1995), que utilizou uma população de uma clínica referência terciária para estimar as doses seguras de exposição para estudos epidemiológicos. As doses que os mais sensíveis (5%) e praticamente todas (95%) as pessoas suscetíveis podem respectivamente responder são respectivamente 3.4 mg e 885.6 mg; sugerindo assim que doses entre essas faixas podem ser usadas em estudos epidemiológicos.

A existência da IgE humana como a classe de imunoglobulinas importante na mediação da resposta alérgica já é notoriamente conhecida desde 1966. O mecanismo de ação envolve uma estimulação inicial antigênica dos linfócitos B imunocompetentes por um anticorpo específico, o processo que induz os linfócitos a responder através da produção de anticorpo específico de várias classes. O anticorpo IgE, torna-se parcialmente ligado via sua porção Fc aos seus receptores na superfície dos mastócitos e leucócitos basofílicos. Após futura estimulação por alérgenos específicos, essas moléculas IgE ligadas às células se ligam via sua porção Fab ao alérgeno. Essa combinação estimula os mastócitos e basófilos a liberar várias aminas vasoativas no sangue e no tecido que o envolve imediatamente. Essas substâncias causam contração do músculo liso e conduzem finalmente a condições alérgicas como urticárias, reação à luz, dermatites, rinites, febre, asma e choque anafilático (Ishizaka et al., 1966; Hamilton R., 1979).

A determinação da IgE é a mais valiosa no diagnóstico e avaliação de pacientes com suspeita ou com doença alérgica estabelecida. Em pessoas normais os valores de IgE são relacionados com a idade, com picos de valores normais em torno de 10-14 anos de idade. Crianças e bebês com história familiar de alergia atópica tem maior risco de desenvolver a doença e constitui a principal população de screening. Estudos vêm mostrando que condições como asma, rinite, eczema, urticária, dermatite e algumas infecções parasitárias levam a uma elevação dos níveis de IgE. Pacientes com asma, febre de feno e eczema atópico podem produzir níveis de 3 a 10 vezes maior do que pacientes normais (Ishizaka et al., 1966; Johansson et al., 1972; Kjellman M., 1976; Wittig et al., 1980; Gleich et al., 1971).

A sensibilidade atópica pode ser diagnosticada por duas diferentes técnicas, indiretamente com o teste cutâneo ou diretamente através do teste

radioalergosorbente/radioallergosorbent test (RAST). O RAST determina quantitativamente níveis de IgE específica circulantes, utilizando alérgenos específicos fixados numa fase sólida carreadora e anti-IgE radiomarcada conforme descrito na seção Materiais e métodos. É um método indicado para diagnóstico de quadros alérgicos com clínica aparente e possui grande valor preditivo na incidência de futuras alergias, mesmo em adultos. Por isso, foi o teste de escolha para o presente estudo. Ambas as técnicas podem ter resultados positivos mesmo sem reação alérgica aparente e quando o RAST fornece um valor positivo indica um maior risco de desenvolvimento de quadros atópicos (Grond K., 1976; Sampson H.A. et al., 1999; Schoefer Y. et al., 2008).

1.1 Fundamentação Teórica

As reações alérgicas ocorrem quando um indivíduo que produz anticorpos IgE em resposta a um antígeno inócuo, ou alérgeno, encontra subsequente o mesmo alérgeno; provocando assim a ativação de mastócitos ligantes de IgE no tecido exposto, levando a uma série de respostas características da alergia (Yongchao Guo et al, 2009). Existem circunstâncias em que a IgE está envolvida na resposta protetora, especialmente em resposta a vermes parasitas (Janeway et al., 2000) que são prevalentes em países subdesenvolvidos. Em países mais avançados, porém, a alergia é uma das doenças mais prevalentes. As reações alérgicas ambientais comuns afetam até a metade da população da América do Norte e da Europa, (Schoefer Y. et al., 2008) e, muito raramente apresentam risco de vida, causam muito sofrimento e são responsáveis por ausências na escola e trabalho. Devido à importância clínica da alergia em países industrializados sabe-se muito mais sobre o distúrbio das respostas mediadas pela IgE do que sobre o papel fisiológico normal desta.

A alergia é parte de uma classe de respostas do sistema imune denominada reações de hipersensibilidade; essas são respostas imunes nocivas que produzem lesão tecidual e podem causar doença séria. As reações de hipersensibilidade foram classificadas em quatro tipos pela classificação de Coombs e Gell em 1963. A alergia freqüentemente é enquadrada como hipersensibilidade tipo I, que são reações do tipo imediato, mediadas por IgE (Goldsby, R.A. et al., 2007).

Muitas pessoas têm sintomas leves, com espirros e coriza; denominado rinite alérgica. Resulta da ativação dos mastócitos mucosos sob o epitélio nasal por alérgenos que se difundem pela membrana mucosa das passagens nasais, é caracterizada por edema local, levando a obstrução nasal, corrimento nasal tipicamente rico em eosinófilos e irritação do nariz por liberação de histamina. Uma reação similar a partículas transportadas pelo ar depositadas na conjuntiva do olho é denominada conjuntivite alérgica (Corder E.H., 1995; Janeway C. A et al., 2007).

Uma síndrome mais séria é a asma alérgica, que é desencadeada pela ativação dos mastócitos submucosos nas vias aéreas inferiores induzidas por alérgenos. Ocorre constrição brônquica e secreção aumentada de líquido e muco, tornando a respiração mais difícil ao aprisionar o ar inalado nos pulmões. Uma característica importante da asma é a inflamação crônica das vias aéreas, que é caracterizada pela presença continuada de um grande número de linfócitos T, eosinófilos, neutrófilos e outros leucócitos. Embora seja inicialmente estimulada por uma resposta a um alérgeno específico, a inflamação crônica subsequente parece ser perpetuada mesmo na ausência aparente de nova exposição a este; e outros fatores podem então desencadear novas crises asmáticas (Corder E.H, 1995; Janeway C.A.et al, 2007).

A pele forma uma barreira efetiva, mas pode ser rompida pela injeção local de pequenas quantidades de alérgeno, por exemplo, pela picada de um inseto, causando uma reação alérgica localizada. A ativação local dos mastócitos na pele leva imediatamente a um aumento local na permeabilidade vascular, que causa extravasamento de líquido, também estimula reflexos no axônio nervoso, causando a dilatação dos vasos sanguíneos cutâneos circundantes. A lesão cutânea resultante é denominada uma reação pápulo-eritematosa. Cerca de 8 horas mais tarde, surge uma resposta edematosa mais disseminada e contínua em alguns indivíduos, como consequência da resposta de fase tardia. Uma forma disseminada da reação pápulo-eritematosa, conhecida como urticária, algumas vezes ocorre quando os alérgenos ingeridos penetram na corrente sanguínea e atingem a pele; a histamina liberada pelos mastócitos produz grandes placas eritematosas e pruriginosas na pele (Warin et al., 1982; Janeway C.A.et al., 2007).

Uma resposta inflamatória mais prolongada algumas vezes é vista na pele, mais freqüentemente em crianças atópicas. Elas desenvolvem um exantema cutâneo persistente denominado eczema, devido a uma resposta inflamatória crônica similar à observada nas paredes brônquicas dos pacientes com asma. Normalmente desaparece na adolescência, ao contrário da rinite e da asma, que podem persistir por toda a vida (Devlin J. et al, 1992; Janeway C.A. et al, 2007).

Quando um alérgeno é ingerido a ativação dos mastócitos mucosos associados ao trato gastrointestinal pode levar à perda de líquido transepitelial e contração do músculo liso, gerando vômitos e diarreia (Sampson H.A. et al., 1999).

A ingestão de alérgenos alimentares também pode levar, ao desenvolvimento de anafilaxia generalizada, acompanhada de colapso cardiovascular e sintomas asmáticos agudos (Corder et al, 1995; Janeway C.A. et al, 2007).

A base da terapia atualmente são as drogas que tratam os sintomas da doença alérgica e limitam a resposta inflamatória que se segue à ativação das células pela ligação cruzada da IgE de superfície ao antígeno. As reações anafiláticas são tratadas com epinefrina que estimula a reforma das junções estreitas endoteliais, promove o relaxamento do músculo liso brônquico contraído e também estimula o coração. Os broncodilatadores inalatórios que atuam sobre os receptores β -adrenérgicos para relaxar o músculo contraído também são usados para aliviar as crises asmáticas agudas. Os anti-histamínicos que bloqueiam os receptores de histamina H1 relevantes incluem aqueles nos vasos sanguíneos que causam permeabilidade aumentada no plasma, e em fibras nervosas que medeiam a sensação de prurido. Na alergia crônica, é extremamente importante tratar e prevenir a lesão tecidual inflamatória crônica com corticosteróides tópicos ou sistêmicos (Sampson H.A. et al., 1999; Janeway C.A. et al, 2007).

1.2 Considerações Regulatórias

A avaliação toxicológica do Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JECFA, grupo de especialistas que avalia a segurança do uso de aditivos para o Codex Alimentarius com enfoque em análise de risco determinou a

Ingestão Diária Aceitável (IDA) de 7,5 mg/Kg de peso corpóreo; que corresponde a 225 mg/dia para uma criança de 30 Kg e 450 mg/dia para um adulto de 60 Kg, sem risco provável à saúde de acordo com o conhecimento até o momento (FDA).

A Foods Standard Agency (FSA), agência do governo britânico de alimentos defende que a Europa proíba o uso de seis corantes artificiais, incluindo a tartrazina, depois que um estudo revelou que essas substâncias podem estar ligadas à hiperatividade infantil (Ward Neil I., 1990 e 1997). "A evidência que temos sugere que seria recomendável retirar esses corantes dos alimentos", afirmou a presidente da Foods Standard Agency (FSA), Deirdre Hutton.

No Brasil a utilização dos corantes é regulada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Resolução – RE nº 572 de 2002 com base nas Notas Técnicas da Gerência de Medicamentos Novos, Pesquisa e Ensaios Clínicos (GEPEC) e do Programa de Validação de Processos de Registro de Medicamentos (Programa Z), determina a obrigatoriedade da advertência, na bula e no cartucho de medicamentos, "Este produto contém o corante amarelo TARTRAZINA que pode causar reações de natureza alérgica, entre as quais asma brônquica, especialmente em pessoas alérgicas ao Ácido Acetil Salicílico".

A ANVISA através da Consulta Pública nº 68 em 2002, propôs modificação na rotulagem de alimentos que utilizem esta substância, com o fim de defender o consumo inadvertido da substância por pessoas alérgicas, propondo a inclusão da mesma frase de advertência nas embalagens dos alimentos. Principalmente por ter recebido inúmeras denúncias referentes a consumidores, relatando reações de hipersensibilidade após a ingestão de produtos com o aditivo na composição, pelo Ministério Público, pelo Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor, de órgãos estaduais e federais.

Ainda em 2002, a ANVISA promoveu uma Debate Científico com a participação de especialistas para discutir a utilização do corante amarelo Tartrazina quanto aos seus aspectos fisiológico, bioquímico, tecnológico e de segurança de uso. Estiveram presentes representantes da área de toxicologia de alimentos, médicos alergiologistas, instituições nacionais de pesquisa, representantes de diversas associações (Sociedade Brasileira de Alergia e Imunopatologia, Associação

Brasileira de Engenharia de Alimentos, Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes, Associação Brasileira das Indústrias de Ingredientes e Aditivos para Alimentos) e técnicos de várias áreas da Anvisa.

A partir das discussões realizadas no evento, foi possível concluir que:

- Estudos demonstram que o possível mecanismo pelo qual o corante amarelo tartrazina cause efeito adverso no seres humanos não está associado a uma reação imunológica, mas poderia tratar-se de uma hipersensibilidade conhecida como intolerância alimentar. Os sintomas relatados se confundem em alguns casos com sintomas de reações alérgicas mediadas por anticorpos específicos.
- A maioria dos estudos é inadequada quanto à abordagem metodológica, à população estudada (doentes crônicos e não agudos), dentre outros aspectos. Portanto, não seria correta a utilização destes resultados para concluir sobre a relação do uso do corante amarelo tartrazina com reações adversas provocadas pelo consumo de alimentos coloridos.
- Seria necessária a padronização para diagnóstico de forma a avaliar corretamente a causa da reação adversa, utilizando a provocação oral por meio da metodologia de Duplo Cego Placebo Controlado (DCPC), bem como um levantamento de dados nacionais com a divulgação dos mesmos.
- O único consenso entre os especialistas foi que deveria haver a informação ao consumidor sobre a presença do corante tartrazina na composição do alimento. A advertência proposta na Consulta Pública 68/02 foi descartada, por não ser possível afirmar que a reação adversa deve-se à tartrazina. Isso poderia induzir as pessoas a não consumir um determinado alimento acreditando ser este a causa de sua reação, permanecendo assim expostas ao risco de reações mais grave (anafilaxia).
- A inclusão da frase “Contém Corante Amarelo Tartrazina” a exemplo de casos de intolerância já comprovados, como “Contém Glúten” (intolerância ao glúten por celíacos) ou “Contém Fenilalanina” (intolerância a fenilalanina por fenilcetonúricos) também foi descartada por não possuir base científica para a comprovação da intolerância a tartrazina por populações específicas.

Depois de chegarem ao consenso de que não há comprovação científica da alergenicidade da Tartrazina, foi publicada a Resolução RDC nº 340 de dezembro de 2002, determinando que produtos que contenham o corante devem especificá-lo por extenso na lista de ingrediente no rótulo. Esta iniciativa já havia sido tomada pelo FDA, Food and Drug Administration, nos Estados Unidos desde 1980.

As concentrações máximas permitidas nos medicamentos e nos alimentos variam de 10 a 30 mg por 100g de alimento, conforme Resolução 387, de 05 de agosto de 1999, da ANVISA.

A ANVISA, com o objetivo de gerar novos dados científicos, através de metodologia adequada, firmou o Convênio de Pesquisa nº. 10/2005 com a Universidade Federal Fluminense, intermediada pela Fundação Euclides da Cunha. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Geral de Bonsucesso que o considerou aprovado, dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos (anexo I). Postulou-se submeter estudo, no Centro de Pesquisas Clínicas da UFF, com voluntários portadores de rinite alérgica, asma, urticária ou sensibilidade a analgésicos e antiinflamatórios não esteroidais, a serem expostos ao corante tartrazina e placebo através de um Estudo Duplo Cego Placebo Controlado a fim de verificar se o aditivo, nas doses consumidas pelos voluntários, provoca exarcebações clínicas dos seus quadros de saúde.

1.3 Estudos Clínicos e Experimentais

Polastrini e cols. (1990) realizaram um estudo de genotoxicidade, vinte e uma amostras de alimentos coloridos com tartrazina disponíveis no comércio, foram utilizadas em dois ensaios *in vitro* de mutação reversa em *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*. Não foram encontradas evidências mutagênicas em nenhum dos dois experimentos.

A DL 50 foi definida em ratos como sendo da ordem de 2.000 mg/kg, e nesta concentração do aditivo, pesquisas apontaram danos genotóxicos (Sasaki et al., 2002).

Na pesquisa conduzida por Collins e cols. (1992), doses de 67,4, 131,8, 292,4, 567,9 e 1064 mg/kg/dia de tartrazina ingeridas em solução, por ratas grávidas no 2º trimestre da gestação, não provocaram alterações na viabilidade fetal, no tamanho fetal, nem foram observados efeitos teratogênicos.

Um estudo realizado a pedido da Foods Standard Agency – FSA, revelou que crianças passam a agir impulsivamente e perdem a concentração depois de consumir uma bebida contendo altos níveis de aditivos. O estudo reuniu 300 crianças, três tipos de bebida foram distribuídos entre elas - uma contendo uma mistura forte de corantes e outros aditivos, uma que continha a média de aditivos comumente consumida diariamente por uma criança e um placebo, sem nenhum tipo de aditivo. O nível de hiperatividade das crianças foi medido antes e depois, e os pesquisadores concluíram que a bebida com a maior quantidade de aditivos teve um efeito "significativamente adverso" se comparado ao efeito da bebida sem aditivos. Os corantes utilizados na pesquisa foram o amarelo crepúsculo (E110), amarelo tartrazina (E102), ponceau 4R (E124), azorrubina (E122), vermelho 40 (E129) e o amarelo quinolina (E104) (McCann D. et al, 2007).

Ensaio conduzido também por Collins e cols. (1990) no qual estudaram ratas grávidas tratadas com doses de tartrazina da ordem de 0, 60, 100, 200, 400, ou 1000 mg/kg/dia, em período gestacional. Não houve efeitos relacionados à dose sobre a viabilidade ou desenvolvimento fetal. O desenvolvimento do esqueleto e das vísceras foi similar nos conceitos de todos os grupos. Os autores concluíram que, nas doses utilizadas, a tartrazina não foi tóxica ou teratogênica.

Lockey (1959) foi o primeiro autor que relatou uma possível associação entre tartrazina e urticária, pelo uso de medicamentos coloridos de amarelo. Em três pacientes portadores de urticária, relatou exacerbação do quadro clínico pela administração da droga. Outras comunicações seguiram-se, associando exacerbações de asma, urticária e anafilaxia, ao uso de aditivos em alimentos e medicamentos (Pollock et al., 1987; Stevensson et al., 1986; Murdoch et al., 1987; Simon RA et al., 1993).

Ardern e cols. (2002) desenvolveram uma meta análise dos estudos publicados sobre o papel da tartrazina no desencadeamento de pioras em pacientes asmáticos. Encontraram 90 estudos que versavam sobre grupos de pacientes asmáticos que foram alvo de exposição controlada à tartrazina. Baseando-se nos critérios atualmente desejáveis para trabalhos científicos, eliminaram 84 trabalhos. Os seis trabalhos restantes obedecem ao modelo técnico - científico estabelecido e são descritos a seguir.

Hariparsad e cols. (1984) estudaram 10 crianças asmáticas, pacientes ambulatoriais de Serviço especializado em atendimento a asmáticos, com história de tosse ou sibilância após ingestão de bebidas alaranjadas. A medicação antiasmática foi interrompida com 24 horas (aminofilina e cromoglicato) e 8 horas (beta agonistas) antes do começo do estudo. Foram administrados em dias separados, de forma duplamente cega, 1 mg de tartrazina ou placebo. Não foram encontradas alterações estatisticamente significantes nos valores basais das provas funcionais respiratórias de nenhum dos indivíduos testados.

Spector e cols (1979) num trabalho duplamente cego, aleatório, controlado e cruzado, estudou 304 pacientes, recrutados dentre os que haviam padecido de obstrução respiratória reversível, durante uma exposição prévia, aberta, à tartrazina, ao ácido acetil salicílico, ao salicilato de sódio ou ao paracetamol. Foram desafiados com 50 mg de tartrazina, sendo que os que tinham antecedentes de positividade à tartrazina foram expostos a doses progressivas, de 1, 5, 15, 25 e 50 mg. O estudo foi duplamente cego, controlado com placebo (lactose). Os pacientes submeteram-se a espirometria antes e após o ensaio, tendo seus medicamentos antiasmáticos sido interrompidos previamente. Ocorreram 4% de desafios positivos com a tartrazina. No entanto, os resultados obtidos podem ser questionados visto que determinados pacientes foram previamente excluídos da exposição à aspirina por apresentarem história de reação intensa, o que trouxe impropriedade metodológica e dificultou a apreciação dos valores encontrados.

Tarlo e cols. (1982) estudaram 28 pacientes asmáticos, recrutados de ambulatorios da especialidade e de clínicas de asmáticos. O teste consistiu na ingestão, por método duplamente cego, com intervalos de 24 horas, de tartrazina,

benzoato de sódio e ácido acetil salicílico. O trabalho foi complementado com 1 mês de observação numa dieta sem tartrazina e benzoato, e posteriormente com esses aditivos, em 24 destes pacientes. Os resultados não apontaram alterações nos parâmetros estudados.

Virchow e cols. (1988) empregando estudo duplo cego, aleatório, cruzado e controlado por placebo, estudaram 156 pacientes com asma induzida por aspirina. O estudo foi multicêntrico, tendo os pacientes idades entre 16 e 63 anos. Os participantes tiveram seus medicamentos broncodilatadores suspensos com pelo menos 8 horas de antecedência. Todos tinham asma induzida por aspirina, o que havia sido confirmado, previamente, por exposição aberta. A tartrazina foi administrada dissolvida em água, em doses progressivas de 1, 5, 10 e 25 mg. Os autores não apresentaram dados no grupo placebo.

Weber (1979) em estudo aberto, com administração aleatória, estudou 45 pacientes com asma persistente intensa, sensíveis a Ácido Acetil Salicílico. Vários corantes e aditivos usualmente empregados em alimentos e drogas foram testados, e dentre esses a tartrazina, em doses progressivas de 2, 5, 10, 15 e 20 mg. Os autores encontraram pacientes sensíveis à tartrazina, porém não apresentaram os dados relativos ao grupo placebo, o que gerou falha metodológica na apreciação dos resultados..

Fulgsang e cols. (1994) estudaram 472 crianças com idades entre 4 e 15 anos, que apresentavam asma, rinite alérgica, dermatite atópica ou urticária. Após 2 semanas de dieta sem aditivos ou corantes, os indivíduos foram desafiados com uma bebida colorida contendo aditivos em baixa concentração. Caso não ocorresse exacerbação da doença atópica até 3 horas após, era servida uma nova bebida colorida, com concentração 10 vezes mais elevada dos aditivos. A tartrazina estava contida na 2ª solução, na dose de 18 mg/100ml. Caso a resposta fosse positiva em qualquer uma das 2 fases, a criança era encaminhada a um teste DCCP. Nos indivíduos submetidos ao teste DCCP, houve piora com a solução ingerida em 2% deles. No entanto, não houve separação de indivíduos que reagissem somente à tartrazina, visto que na bebida ingerida, a tartrazina era apenas um dos componentes. Da análise desses estudos, Arden e seus colaboradores (2002)

concluíram que não há indicação irrefutável de que a abstenção do uso do corante tartrazina possa trazer benefícios ao paciente portador de asma.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

Avaliar a segurança do uso da tartrazina em portadores de enfermidades alérgicas (rinite alérgica, asma brônquica, urticária ou sensibilidade à anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), i.e., pacientes atópicos.

2.2 Específico

Caso provoque reação alérgica, determinar se é uma reação mediada por IgE específica.

3 MATERIAIS

3.1 Cápsulas:

A substância estudada foi oferecida em pó, contida em cápsulas identificadas com as respectivas doses de 5, 10 e 20 mg.

A lactose foi utilizada como controle em cápsulas não diferenciáveis das contendo a tartrazina,

Ambas as cápsulas identificadas com os mesmos dizeres e doses, diferindo uma da outra apenas pela adição do sinal # ao lado da numeração nas cápsulas contendo o corante.

Assim, um frasco plástico branco opaco, rotulado com o nome e número do projeto, a data de fabricação o n^o. do frasco (e.g. 48 ou 48#), continha 03 cápsulas nomeadas com as 03 diferentes doses.

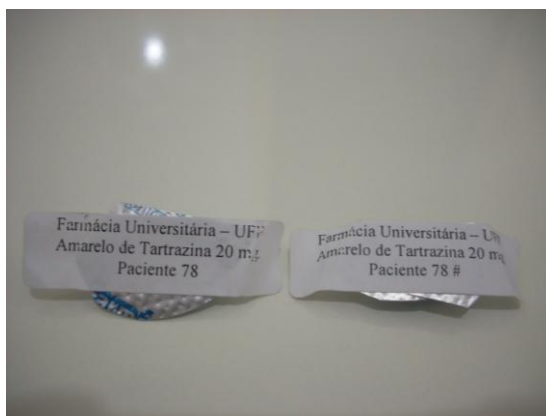


Figura 1: Identificação das cápsulas utilizadas no estudo

3.2 Randomização:

Tabela I – Randomização dos pacientes do estudo

Paciente	Sequência	Paciente	Sequência	Paciente	Sequência
HUAP 27	A	HUAP 59	A	HUAP 91	A
HUAP 28	A	HUAP 60	A	HUAP 94	B
HUAP 30	A	HUAP 61	A	HUAP 95	B
HUAP 31	A	HUAP 62	A	HUAP 96	A
HUAP 33	A	HUAP 63	A	HUAP 97	B
HUAP 34	A	HUAP 65	A	HUAP 98	A
HUAP 35	B	HUAP 66	A	HUAP 99	A
HUAP 36	A	HUAP 67	A	HUAP 100	B
HUAP 37	A	HUAP 68	A	HUAP 101	A
HUAP 38	A	HUAP 69	A	HUAP 102	B
HUAP 39	B	HUAP 70	B	HUAP 103	B
HUAP 40	B	HUAP 71	B	HUAP 105	B
HUAP 41	A	HUAP 72	B	HUAP 106	B
HUAP 43	A	HUAP 73	A	HUAP 107	A
HUAP 44	A	HUAP 75	A	HUAP 108	B
HUAP 45	A	HUAP 76	B	HUAP 109	A
HUAP 46	B	HUAP 77	A	HUAP 110	A
HUAP 47	A	HUAP 78	A	HUAP 112	A
HUAP 48	A	HUAP 79	A	HUAP 113	B
HUAP 50	B	HUAP 80	B	HUAP 114	A
HUAP 51	B	HUAP 81	B	HUAP 115	B
HUAP 52	A	HUAP 82	B	HUAP 116	A
HUAP 53	B	HUAP 86	A	HUAP 117	A
HUAP 54	A	HUAP 87	A	HUAP 118	B
HUAP 56	A	HUAP 88	A	HUAP 119	B
HUAP 58	B	HUAP 89	A		

Sequência A: exposição na primeira etapa ao corante e na segunda etapa ao placebo

Sequência B: exposição na primeira etapa ao placebo e na segunda etapa ao corante

3.3 Análise da IgE Tartrazina:

A IgE tartrazina foi dosada através kit Allergen discs C717 Tartrazine, Immunolab GMBH.

Reagentes:

- Hycor Specific IgE RIA Tracer Unit:

Tracer: 1 vial contendo 5,2 de 125 I-rato/cabra anti-IgE humana (radioatividade é máxima em 10 μ Ci) e 0,1% de azida de sódio como conservante.

Wash solution Concentrate: 4 vials, cada um contendo 10 ml de concentrado salino com ®Triton X-100 (trademark registrada da Rohm and Haas Company).

- Materiais de Calibração:

IgE Calibrator, 25 IU/ml: 1 vial contendo 1 ml de calibrador IgE, 25 UI/ml e < 0,1% de azida de sódio como conservante. Pronto para usar no controle.

IgE Antibody Discs: 2 vials contendo 25 discos de papel impregnados com anti-IgE em 5 ml de tampão de estocagem com e < 0,1% de azida de sódio como conservante.

Specific Allergen Discs: discos de alérgenos (tartrazina).

Hycor Specific Allergen Discs: empacotados em vials com 5 ml de tampão de estoque e < 0,1% de azida de sódio como conservante.

3.4 Análise de Leucotrieno:

A análise foi realizada pelo ACE Imunoensaio por competição enzimática, através do kit Leukotriene E₄ EIA Kit Catalog No. 520411 (Strip Plate) Catalog No. 520411.1 (Solid Plate) fabricado pela Cayman Chemical.

Reagentes:

LTE₄ Antiserum

LTE₄ Tracer

LTE₄ Standard

EIA Buffer

Wash Buffer

Tween 20

Ellman's Reagent

EIA Tracer Dye

EIA Antiserum Dye

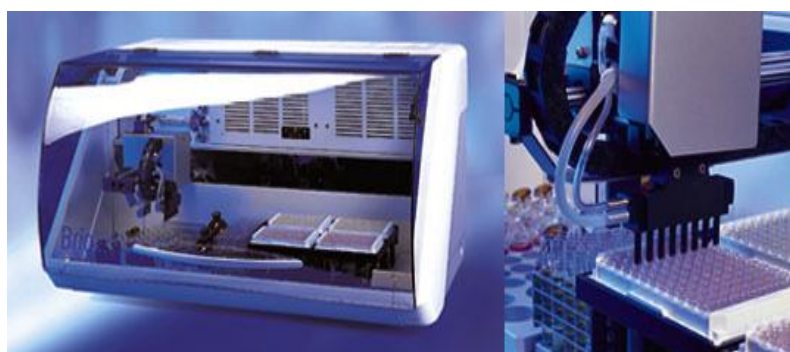


Figura 2: Aparelho BRIO

3.5 Pico de Fluxo Expiratório:

As aferições foram realizadas com o aparelho Assess Peak Flow Meter ATS 94, fabricado pela Health scan products inc ; com escala de 60 a90 l/min de acordo com as especificações do produto.

4 MÉTODOS

4.1 Tamanho da amostra

O cálculo para o tamanho da amostra foi realizado considerando a significância estatística de 0,05 e o tamanho mínimo de amostra seria 42.

4.2 Recrutamento

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em pesquisa do Hospital Geral de Bonsucesso, que considerou a pesquisa aprovada para os padrões éticos da pesquisa com seres humanos, conforme a Resolução nº 196 de outubro de 1996, que dispõe sobre a pesquisa envolvendo seres humanos.

Os voluntários foram recrutados a partir de cartazes e divulgação ética em Serviços especializados do Hospital Universitário Antonio Pedro (HUAP), em clínicas privadas, por informação interpessoal e através da divulgação da pesquisa em jornais de ampla circulação. Os voluntários recrutados eram reunidos em ambiente próprio, informados sobre as etapas e os procedimentos da pesquisa, os benefícios e eventuais riscos, sobre a necessidade de assinarem o Termo de Consentimento livre e esclarecido (TCLE), sobre os ressarcimentos de gastos e a Declaração de Comparecimento, durante os dias de ensaio. Após assinatura do TCEI, se concordassem, recebiam um número de código de prontuário com suas iniciais em cada um dos formulários. A seguir, eram entrevistados por pessoal da equipe (Médicos, Farmacêuticos e Enfermeiros), respondiam a questionário dirigido sobre dados demográficos, história clínica (anamnese), medicações que usavam habitualmente ou em uso recente, eram submetidos a um exame físico minucioso.

E, se preenchessem os critérios de inclusão e exclusão, eram considerados selecionados. Estes eram também informados que não podiam apresentar crises atópicas ou quaisquer co-morbidades descompensadas, ou seja, deveriam estar hígidos nos dias de exposição (ingestão de cápsulas ou placebo).

4.3 Seleção

Foram selecionados 94 voluntários para a pesquisa, sendo que 15 foram excluídos por não concluírem o estudo e outros 10 pacientes foram excluídos por não coletarem amostra para análise da IgE tartrazina após a exposição. Então, para avaliação da IgE tartrazina antes e depois da exposição ao corante temos 69 voluntários, este número é satisfatório tendo em vista o cálculo estatístico de $N = 42$ para um poder de teste de 0,8 e nível de significância de 0,05. Os pacientes selecionados deveriam ser de ambos os sexos, sendo portadores de asma brônquica, rinite alérgica, urticária, sensibilidade a antiinflamatórios não hormonais, todos eles com idades entre 18 e 65 anos, e que se dispusessem, através de consentimento informado, a participar do estudo.

Critérios de Inclusão:

Ter idade entre 18 e 65 anos de idade;

Portadores de asma nos últimos 2 anos, diagnosticada por médico ou com critérios diagnósticos de episódios de dispnéia sibilante, reversível espontaneamente ou com medicamentos bronco dilatadores, ou apresentando queda de pelo menos 20% do Pico Máximo do Fluxo Expiratório (VEF_1), reversível espontaneamente ou com medicamentos; ou

Portadores de urticária, definida como a presença de pápulas características (ponfos), diagnosticada por médico ou como manifestação característica, peculiar, fugaz e sensível a antihistamínicos, independentemente da causa, com pelo menos 2 episódios nos últimos 2 anos; ou

Pacientes que apresentem história clínica de sensibilidade a ácido acetil salicílico / antiinflamatórios não esteroidais, com pelo menos 2 episódios nos últimos 2 anos, com manifestações cutâneas e/ou respiratórias e cardiovasculares; ou

Portadores de rinite alérgica, definida como tendo sintomas intermitentes ou persistentes de prurido nasal, obstrução nasal reversível e espirros em salva, acompanhados ou não de prurido ocular, palatino e / ou faríngeo, com quadro de edema pávido e úmido de cornetos nasais, ou diagnosticada por médico nos últimos 2 anos.

Critérios de Exclusão:

Menores de 18 ou maiores de 65 anos.

Gestantes e Nutrizes

História pregressa de reação anafilática;

Formas hereditárias de angioedema;

Voluntários em uso de beta-bloqueadores;

Asma grave, dependente de corticóide oral ou de broncodilatadores de longa ação, ou doentes com instabilidade diária do Fluxo Expiratório de Pico (PF) superior a 30%;

Doenças pulmonares além da asma ou doenças sistêmicas que apresentem repercussão pulmonar;

Rinite não alérgica ou sinusite;

Patologia cutânea que interfira, através de prurido e/ou pápulas, com a avaliação clínica.

Fluxograma 1 – Algoritmo do Ensaio Clínico

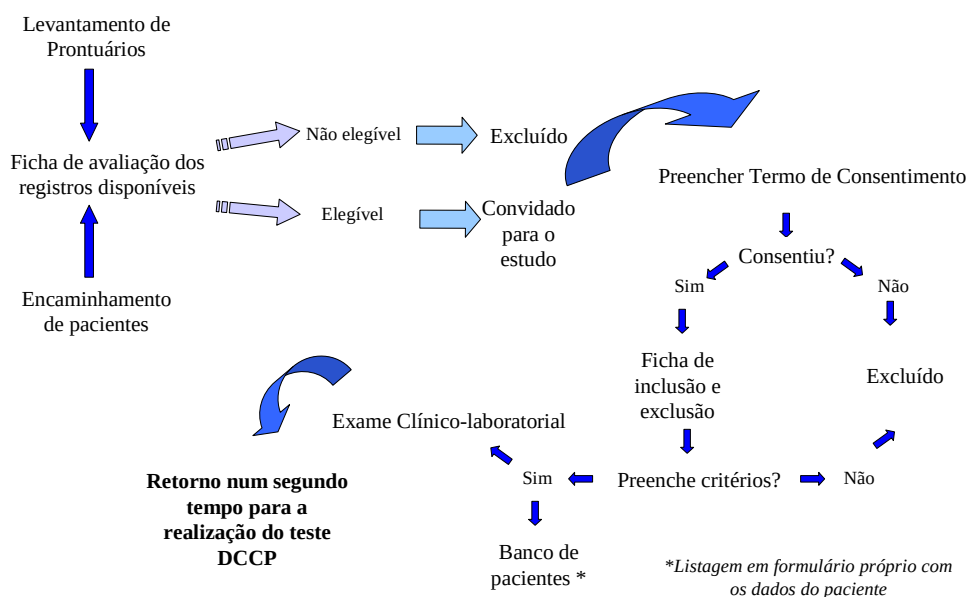


Figura 3: Fluxograma do estudo

Os voluntários que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão foram encaminhados para uma avaliação clínico-laboratorial. Conforme previsto na Resolução 196/96, a avaliação clínico - laboratorial foi realizada antes da admissão dos voluntários ao estudo e antes da alta.

No exame clínico foi realizada aferição de pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura axilar, pico de fluxo expiratório, avaliação da presença de angioedema, espirros, prurido, rinorréia, sibilância, tosse, rash cutâneo e urticária. Na avaliação laboratorial foi realizado Hemograma completo, dosagem de glicose, uréia, creatinina, Lipidograma, TGO/AST, TGP/ALT, IgE específico para tartrazina, GGT, sódio, potássio e IgE Total. Todos os dados foram registrados no Formulário de Relato de Caso (FRC).

4.4 Ensaio Clínico

O método utilizado no estudo foi o desafio duplamente cego controlado por placebo (DCCP) que tem sido considerado como padrão ouro no diagnóstico de reações alérgicas a medicamentos e a alimentos e como um procedimento consagrado internacionalmente e capaz de ser realizado em unidades ambulatoriais (Bock S.A. et al., 1988; Kurowski K et al., 2008).

A anamnese levou em conta a natureza e a intensidade dos sintomas, história anterior de exacerbações pelo uso de alimentos ou drogas coloridas de amarelo, reprodutibilidade dos sintomas em exposições posteriores, quantidade aproximada ingerida e dados pessoais e familiares.

O estudo foi realizado em duas etapas com intervalo de 7 dias, os pacientes receberam aleatoriamente as cápsulas de placebo (controle) ou de Tartrazina (estudo) em cada etapa de estudo, conforme metodologia de domínio corrente, sucintamente descrita a seguir: a droga estudada foi oferecida em pó, contida em cápsulas numeradas, enquanto a lactose, em cápsulas não diferenciáveis das contendo a tartrazina, foram utilizadas como controle; marcadas com os mesmos dizeres e quantidades, diferindo uma da outra apenas pela adição do sinal # ao lado da numeração. Assim, um frasco plástico branco opaco, rotulado com o nome e n°. do projeto, a data de fabricação o n°. do frasco (e.g. 48 ou 48#), continha 03 cápsulas nomeadas com as 03 diferentes doses.

A ordem de administração das doses dos agentes (5mg 10mg e 20mg) e dos placebos (5mg 10mg e 20mg) foi sempre crescente e seqüencial, da menor dose (5mg) para a maior dose (20mg) a cada 50 minutos.

A preparação e a rotulagem ficaram a cargo de um único profissional da Farmácia Universitária da Universidade Federal Fluminense, que manteve sob sua guarda o código de identificação. A codificação não permitia o reconhecimento de diferenças entre as cápsulas de placebo e de controle, seja por parte do paciente, seja por parte do pesquisador

O estudo se iniciou sempre às 8h da manhã, os pacientes eram avisados que não poderiam ingerir alimentos com aditivos por pelo menos 48 horas antes da data da internação para o ensaio, além disso foram orientados a fazer um jejum às 7 horas da manhã, ingerindo refeição nutricionalmente balanceada e livre de corantes e aditivos. As drogas regularmente utilizadas pelo paciente não foram interrompidas, com exceção aos beta-bloqueadores e anti-histamínicos que excluem a participação do estudo. Após avaliação clínica, conforme descrito anteriormente, a dose inicial era administrada, processo que se repetiu sucessivamente a cada 50 minutos, até a dose de nº. 3 (20 mg de placebo ou de tartrazina) ser atingida ou aparecerem alterações clínicas que justificassem a interrupção do estudo. Cada voluntário foi observado por 60 minutos após a última dose ter sido administrada e levou consigo um questionário a ser respondido no dia corrente restante e no dia imediatamente posterior à prova, versando sobre eventuais reações suspeitas de se associarem à prova realizada. No segundo dia de teste, sete dias após a primeira etapa, os pacientes foram novamente submetidos à avaliação clínica antes de se iniciar a administração das cápsulas. Ao final da segunda etapa foi coletada amostra de urina para realização da análise de Leucotrienos e 48 horas após a segunda etapa foi feita coleta de 2ml de sangue por punção venosa para análise de IgE específica.

4.5 Estatística

Os dados obtidos foram armazenados e analisados no programa *SPLUS* versão 8.0. Todas as variáveis foram testadas quanto à sua normalidade pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Os resultados foram apresentados como média $\pm$ DP. O teste *t* de *Student* foi utilizado para comparação de duas médias quando a variável apresentou distribuição normal, e quando a distribuição foi anormal aplicou-se o teste de Wilcoxon. Adotou-se como nível de significância estatística o valor de *P* menor que 0.05.

4.6 Exames Laboratoriais

Os exames laboratoriais da rotina hematológica e bioquímica foram feitos através de procedimentos automatizados em Laboratório de Análises Clínicas credenciado junto ao Programa Nacional de Controle e Garantia Qualidade (nº. 00630), licitado por chamada pública e selecionado entre um mínimo 3 instituições de igual porte e condições operacionais. Os resultados das análises eram expedidos num prazo de 48 a 72 horas, após a coleta, e os laudos anexados ao prontuário de cada voluntário, identificados por suas iniciais e número. Foi acordado com o Laboratório que este seria responsável pela coleta de sangue e urina dos voluntários, a cada ensaio, durante todo o período de vigência do estudo e que alíquotas de sangue e urina estariam disponíveis à Coordenação do Projeto até que os dados obtidos pudessem ser consolidados. Os resultados referentes às dosagens de IgE total e Específica bem como os de Leucotrieno Urinário foram acompanhados pela profissional farmacêutica da Equipe do Projeto (Letícia Soares Tavares Moraes).

4.6.1 Análise de IgE específica

O radioimunoensaio é um método para determinação semi-quantitativa da concentração de IgE alérgeno-específica em soro, para uso em diagnóstico in vitro. Os níveis circulantes de IgE alérgeno-específica podem ser determinados através do uso de alérgenos específicos fixados em uma matriz de fase sólida. Esse método também utiliza anticorpo radiomarcado ligado à IgE e é conhecido como teste radioalergosorbente (RAST).

Princípio do Ensaio:

Um disco alergênico da Hycor é colocado para reagir com a IgE alérgeno específica do soro do paciente. O disco é lavado, e então reage com ^{125}I -anti-IgE, é lavado novamente produzindo uma matriz de fase sólida com radioatividade proporcional à quantidade de IgE alérgeno-específica no soro do paciente. Essa matriz é computada/contada em um contador gamma. Um soro referência com concentração conhecida de IgE alérgeno-específica é analisado simultaneamente com as amostras construindo assim uma calibração para comparação. A IgE

alérgeno-específica de concentração desconhecida na amostra em teste é calculada e comparada ao soro referência.

Instruções para preparo dos reagentes:

- Wash Solution:

Coloque o conteúdo de 1 vial da solução de lavagem concentrado (10ml) em um cilindro graduado de no mínimo 500 ml de capacidade. Rinse o vial com água destilada e complete o cilindro com água destilada até o volume de 500 ml. Transfira para um recipiente de armazenagem com capacidade de 500 ml.

- Condições de armazenamento:

Estocar o kit a 2-8°C

Os discos individuais podem ser estocados por 6 meses à Temperatura ambiente (20-25 °C)

A solução de lavagem pode ser estocada à 2-8°C ou Temperatura ambiente (20-25 °C)

Coleta da amostra e manuseio:

Usar soro nesse ensaio. Obter as amostras por venopunção não-traumática, utilizando tubo a vácuo ou seringa estéril. Deixar as amostras para coagular por no mínimo 20-30 minutos, até que o coágulo comece a retrair. Colocar as amostras na centrífuga e após centrifugação transferir o soro para um tubo de estoque adequado. Cobrir as amostras e identificar quanto às condições de estabilidade:

Refrigeração (2-8°C): 21 dias

Congelamento ($\leq$ - 20°C): 6 meses

Temperatura de transporte: ambiente ou embalagens resfriadas

Antes do teste deixe as amostras atingirem a temperatura ambiente (20-25 °C), misturar cuidadosamente com suaves inversões.

Procedimento do Teste:

- 1- Identificar 2 tubos para Total Activity (TA), tubos #1 e #2;
- 2- Identifique 2 tubos para 25 UI/ml IgE calibrador (tubos #3 e #4) e coloque na estante de suporte;
- 3- Para cada controle identifique 2 tubos para o alérgeno a ser testado (tartrazina). Para cada amostra de paciente a ser testada identifique 1 tubo;
Remova o excesso de tampão dos discos em papel absorvente, antes de usá-lo;
- 4- Adicione 1 disco de anticorpo nos tubos #3 e #4 para tempo controle;
- 5- Adicione o disco alérgeno-específico no topo dos tubos apropriados;
- 6- Pipetar 100 µl do calibrador 25 UI/ml (padrão tempo controle) diretamente em cima dos discos nos tubos #3 e #4;
- 7- Pipetar 100 µl do soro controle ou da amostra do paciente diretamente em cima dos discos dos correspondentes tubos;
- 8- Cobrir os tubos com filme plástico para evitar a evaporação e deixe-os incubar à temperatura ambiente durante a noite (16-24 horas);
- 9- Aspire o líquido de todos os tubos;
- 10- Adicionar 2 ml da solução de lavagem a todos os tubos, exceto os de TA. Espere 10 minutos e aspire a solução de lavagem. Repetir esse procedimento mais duas vezes até completar três lavagens. Após a terceira aspiração, deixe os tubos em repouso por um minuto e depois os aspire novamente para remover qualquer resíduo da solução de lavagem;
- 11- Pipetar 50 µl do Hycor Specific Tracer diretamente em cima de todos os discos e dentro do tubo TA (tubos #1 e #2);
Cobrir os tubos TA e os demais tubos com filme plástico para evitar evaporação e deixe-os incubar durante a noite (16 a 24 horas) à temperatura ambiente;
- 12- Após incubar, repetir o procedimento de lavagem descrito nas etapas 9 e 10. Não lave os tubos TA (tubos #1 e #2);
- 13- No contador gamma, conte o tubo #3 até o contador alcançar a soma/conta/computar 25,000. Registre o tempo necessário, repetir o procedimento para o tubo #4. Calcule a média de tempo necessária para atingir a soma de 25,000 dos tubos #3 e #4 e ajuste o contador gamma para este tempo;

14- Conte a radioatividade em todos os tubos para o tempo calculado e registre todas as contas

Tabela II – Resumo do procedimento do RAST

Tubos	Discos	Identificação	Controle ou amostra			125I-anti-IgE			
1 e 2		Total Activity		Incubar durante a noite sob temperatura ambiente (20-25°C)	Lavar os discos 3 vezes com solução de lavagem	50 µl	Incubar durante a noite sob temperatura ambiente (20-25°C)	Lavar os discos 3 vezes com solução de lavagem	Medir a radioatividade no contador gamma
3 e 4	discos de anticorpo	Tempo controle 25 UI/ml IgE	100 µl			50 µl			
5 e 6	disco alergênico apropriado	Soro controle negativo	100 µl			50 µl			
7 e 8	disco alergênico apropriado	Soro controle positivo	100 µl			50 µl			
9	G6	amostras de pacientes	100 µl			50 µl			
10	W1	amostras de pacientes	100 µl			50 µl			
11	(etc)	amostras de pacientes	100 µl			50 µl			
(etc)	(etc)	amostras de pacientes	100 µl			50 µl			

Interpretação dos Resultados

Os resultados dos pacientes são expressos como contas/números ou percentagem do tempo controle e classificados conforme tabela abaixo:

Tabela III - Sistema de Escore do RAST

Classe	Alcance da conta	Valor expresso como % do tempo controle	Avaliação Clínica
0	< 500	< 2%	abaixo da detecção
0 / I	501 - 750	2 - 3%	Equivocado
I	751 - 1600	3 - 6,4%	Níveis elevados de anticorpo-antígeno-específico
II	1601 - 3600	6,4 - 14,4%	
III	3601 - 8000	14,4 - 32%	
IV	8001 - 18000	32 - 72%	
V	18001 - 40000	72 - 160%	
VI	> 40000	> 160%	

Tempo controle 25 UI/ml = 100%

Classe 0: negativo

Classe I ou maior: positivo

Tabela IV – Valores Referência para o RAST

RAST Classe	IgE Especifica (IU/mL)
Negative	<0.35
I	0.35 – 0.7
II	0.7 – 3.5
III	3.5 – 17.5
IV	17.5 – 50
V	50 – 100
VI	>100

Performance:

Estudos correlacionados: Amostras clínicas foram analisadas através do sistema Hycor Specific IgE RIA em paralelo com outros sistemas referência disponíveis comercialmente.

Múltiplas amostras positivas e negativas foram ensaiadas em cada disco disponível. As amostras reativas (positivas) forneceram coeficiente de correlação = 0,97

Precisão:

Variação intra-ensaio: vários discos alergênicos foram analisados 20 vezes cada no mesmo ensaio. O coeficiente de variação foi de 8,8%

Variação inter-ensaio: vários discos alergênicos foram analisados 20 vezes cada em múltiplos ensaios. O coeficiente de variação foi de 11,2%.

4.6.2 - Análise de Leucotrieno

Descrição do ACE Imunoensaio por competição enzimática:

Esse procedimento se baseia na competição entre LTE4 e LTE4-acetilcolinesterase conjugada (LTE Tracer) para uma quantidade limitada de antisoro de LTE4. Como a concentração do LTE4 Tracer é praticamente constante, enquanto que a concentração do LTE4 varia, a quantidade de LTE Tracer que está disponível para ligação com antisoro de LTE4 será inversamente proporcional à concentração de LTE4 no poço. Este complexo Anticorpo-LTE4 se liga a uma anti-IgG monoclonal de que está previamente fixada ao poço. A placa é lavada para remover qualquer reagente não-ligado em excesso em seguida adiciona-se o Reagente de Ellman's (substrato para AchE) ao poço. O produto desta reação enzimática tem uma cor amarela distinta e tem forte absorbância em 412nm. A intensidade desta cor, determinada espectrofotometricamente, é proporcional à quantidade de LTE Tracer ligado ao poço, a qual é inversamente proporcional à quantidade de LTE4 livre presente no poço durante a incubação.

Definição dos Termos chaves:

Branco: Absorbância obtida com o Reagente de Ellman's. Quando preparado recentemente fornece uma absorbância de aproximadamente 0,1 Unidades de absorbância (A.U.), que deve ser subtraída das absorbâncias lidas de todos os outros pontos.

Atividade Total: Atividade enzimática total da AchE-ligada ao traço.

NSB (Ligação não Específica): Ligação não-imunológica do traço do poço. Mesmo na ausência do antisoro específico uma quantidade muito pequena do traço ainda se liga ao poço, o NSB é a medida desta mínima ligação.

B₀: Quantidade máxima do traço que o anti-soro pode ligar na ausência do analito livre.

% B/B₀: Proporção da absorbância do poço da amostra específica ou do padrão e do poço de máxima ligação B₀.

Curva Padrão: Gráfico dos valores da % B/B₀ pelos valores das concentrações do analito.

Preparo dos Tampões (armazenados a 4°C são estáveis por aproximadamente dois meses)

EIA Buffer: diluir o conteúdo de um vial do tampão EIA (vial #4) em 90 mL de água ultra-pura. Rinsar o vial para remover qualquer sal que tenha precipitado.

Wash Buffer: diluir o conteúdo do vial de 5 mL do Wash Buffer Concentrate (vial #5) para um volume total de 2 litros com água ultra pura e adicionar 1mL do Tween 20 (vial #5a).

Reconstituição dos Reagentes

Padrão de Leucotrieno E₄:

Equilibrar a pipeta em etanol enchendo-a e esvaziando-a repetidamente

Transferir 100µL do Padrão LTE₄ (vial #3) para um tubo de teste limpo, diluir com 900µL de água ultra pura. A concentração desta solução é 10ng/mL

Para preparar o padrão para usar no EIA: Pegue oito tubos de teste e numere-os de #1 a #8. Aliquote 900µL do Tampão EIA para o tubo #1 e 500µL do Tampão EIA nos tubos #2 a 8. Transfira 100µL da solução padrão a 10 ng/L para o tubo #1 e misture completamente.

Faça uma diluição em série do padrão removendo 500µL do tubo #1 e colocando no tubo #2, misture completamente. Em seguida, remova 500µL do tubo #2 e colocando no tubo #3, misture completamente. Repita o procedimento para os tubos #4 a #8.

Esses padrões diluídos não podem ser armazenados por mais de 24 horas.

Traços de Leucotrieno E₄ AchE:

Reconstitua o 100 dtn LTE₄ Tracer (vial #2) com 6 mL de EIA Buffer. Armazenar a 4°C (não congelar) e use durante o período de 4 semanas. Deve-se preparar 20% de sobra para repor perdas acidentais.

Anti-soro de Leucotrieno E₄:

Reconstitua o 100 dtn LTE₄ Antiserum (vial#1) com 6mL do EIA Buffer. Armazenar a 4°C e usar por 4 semanas. Preparar com uma sobra de 20% para repor perdas acidentais.

Procedimento

Não é necessário rinsar os poços antes de adicionar o reagente.

Cada placa deve conter no mínimo 2 brancos, 2NSB, 2B₀, e 8 pontos de padrão em duplicata. Cada amostra deve ser preparada em 2 diluições e cada diluição deve ser preparada em duplicata.

1. EIA Buffer

Adicione 100μL do EIA Buffer aos poços de NSB.

Adicione 50μL do EIA Buffer aos poços de B₀

2. Leucotrieno E₄ Padrão

Adicione 50μL do frasco #8 ao S8 (menor diluição do padrão).

Adicione 50μL do frasco #7 a cada poço S7.

Continue com este procedimento até que todos os padrões sejam aliquotados. O mesmo tipo de pipeta pode ser usado para aliquotar todos os padrões. Antes de pipetar cada padrão, certifique-se de que a pipeta está equilibrada no padrão.

3. Amostras

Adicione 50µL de amostra em cada poço. Cada amostra deve ser preparada no mínimo em 2 diluições. Cada diluição deve ser preparada em duplicata.

4. Leucotrieno E₄AchE tracer

Adicione 50µL a cada poço exceto o de Total Activity (TA) e Branco (Blk)

5. Leucotrieno E₄ Antiserum

Adicione 50µL a cada poço exceto TA, NSB e Blk

Tabela V – Resumo do procedimento LTE4 EIA Kit

	EIA Buffer	Padrã o/ Amostra	Trac er	Anticor po
BLK	-	-	-	-
TA	-	-	5µL	-
NSB	100 µL	-	50µL	-
B ₀	50µ L	-	50µL	50µL
Padr ão / Amostra	-	50µL	50µL	50µL

6. Incubação da Placa

Cubra cada placa com filme plástico (item#7) e incube por 18 horas a Temperatura Ambiente

7. Desenvolvimento da Placa

Reconstitua um vial de 100 dtn do Reagente de Ellman (vial #8) com 20mL de água ultra-pura (deionizada). Depois de reconstituído, o reagente de Ellman é instável e deve ser usado no mesmo dia da preparação. Proteger da luz quando não estiver utilizando.

Esvazie os poços e rinse 5 vezes com Wash Buffer.

Adicione 200µL do Reagente de Ellman a cada poço e 5µL do Tracer aos poços de TA, cubra a placa com filme plástico

Este procedimento dura de 60 a 90 minutos.

8. Leitura da Placa

Leia a placa no comprimento de onda entre 405 e 420 nm (geralmente 412nm). Antes da leitura de cada placa limpe o fundo da placa com um pano limpo para remover marcas de dedos, sujeiras, entre outras porque as manchas podem alterar significativamente a leitura da absorbância.

Certifique-se de que o Reagente de Ellman não espirre na placa, qualquer perda afetará a leitura da absorbância. Se isto ocorrer use a pipeta para removê-lo para dentro do poço. Se transbordar muito reagente lave a placa 3 vezes com o Wash Buffer e repita o procedimento com Reagente de Ellman Fresco.

A placa deve ser checada periodicamente até os poços de B₀ atingirem o mínimo de 0,3 AU (subtraído do branco). A placa deve ser lida quando a absorbância do B₀ estiver entre 0,3 e 1,0 AU. Se a absorbância exceder 1,5 lave a placa, adicione Reagente de Ellman fresco e deixe desenvolver de novo.

4.7 - Pico de Fluxo Expiratório

Os pacientes foram treinados para o uso de monitor de pico de fluxo expiratório (PF), que foi aferido quatro vezes em cada etapa do estudo, antes de iniciar a administração das cápsulas, 50 minutos após a cápsula de 5mg, 50 minutos após a cápsula de 10mg e 50 minutos após a cápsula de 20mg. Todas as aferições foram registradas nos prontuários correspondentes dos voluntários.

4.8 – Teste Cutâneo

Os testes cutâneos envolvem aplicar na pele pequenas gotas diluídas do alérgeno suspeito e então esfregar a pele para que seja absorvido. São testados vários alérgenos de cada vez e a maioria dos alergistas usa combinações baseadas nos alérgenos encontrados na sua convivência. O braço é usado para um número

menor de testes; as costas são usadas para testes mais extensos. Pessoas sensíveis a um alérgeno em particular, terão uma reação na forma de vermelhidão e/ou bolha em menos de 20 minutos. O médico ou um assistente inspeciona a área onde foi feita a aplicação e escreve um número correspondente ao tamanho e extensão da reação.

RESULTADOS

Dados Demográficos:

Gráfico 1: Nº de pacientes por sexo

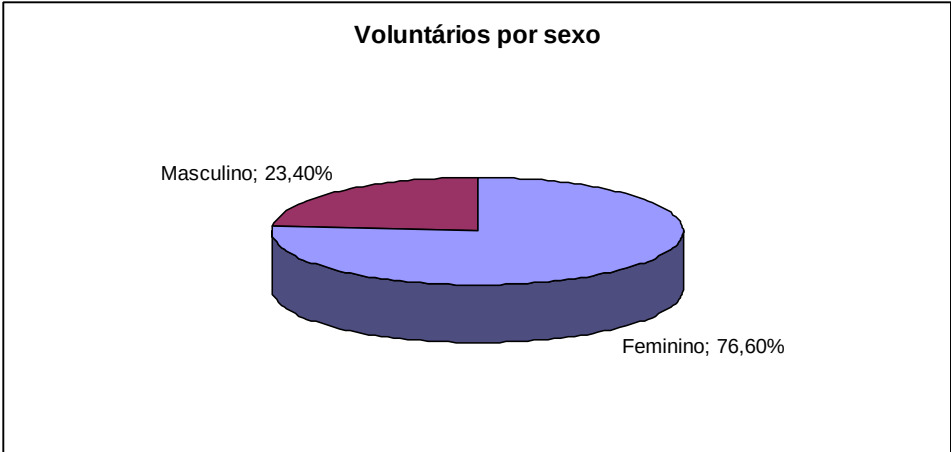
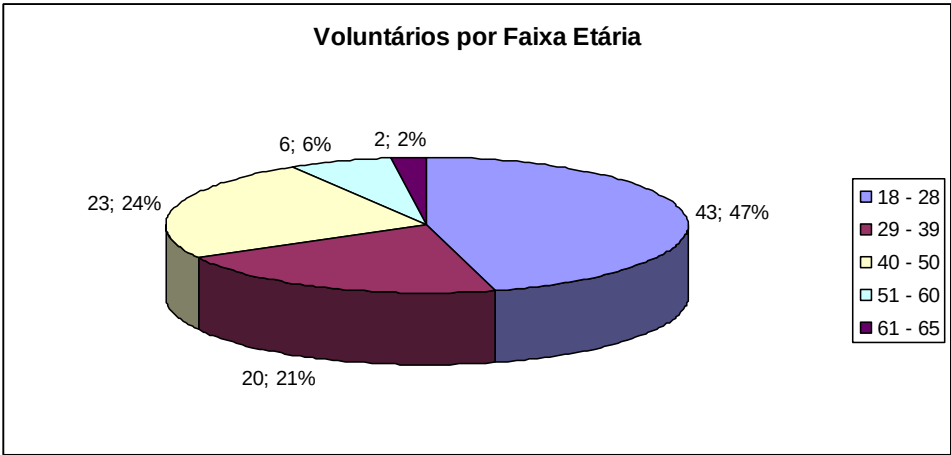


Gráfico 2: Nº de pacientes por faixa etária



1 – Pressão Arterial:

A cada contração cardíaca, a pressão, nas condições normais, aumenta até cerca de 120 mmHg, que corresponde à pressão sistólica. Estudos epidemiológicos já demonstraram associação entre comprometimento da função pulmonar e fatores de risco cardiovascular (Kony S et al., 2003). Como as reações alérgicas estão intimamente relacionadas ao acometimento das vias aéreas inferiores, o estudo avaliou possível associação com a hipertensão arterial, porém não está no escopo dessa dissertação.

2 - Frequência Cardíaca

Frequência cardíaca é o número de vezes que o [coração](#) bate por minuto, no adulto normal é de 60 a 100 batimentos por minuto. O aumento da frequência cardíaca é comum nas crises alérgicas, por isso os pacientes do estudo foram avaliados para verificar se houve alteração, porém não está no escopo dessa dissertação.

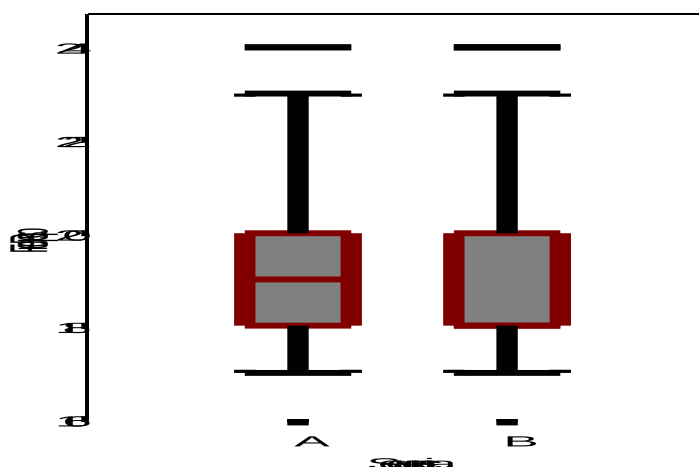
3 - Frequência Respiratória

A frequência respiratória do adulto fica entre 12 e 20 movimentos por minuto (mpm), acima desses valores é taquipnéia e abaixo caracteriza-se a bradipnéia. No quadro alérgico pode ocorrer encurtamento da respiração com aumento da FR.

Frequência Respiratória		
Sequência A ($\bar{x} \pm DP$)	Sequência B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
19,28 $\pm$ 1,23	19,08 $\pm$ 1,41	0,0046

p-valor		
Semana	Etapas	Tempo
0,2759	0,4547	0,8083

Gráfico 3: Comparação da FR entre as semanas



Não existe diferença significativa na frequência respiratória dos voluntários do estudo entre as semanas, as etapas e os tempos de aferição. Mas a FR é diferente entre as seqüências A (exposição primeiro ao corante e depois ao placebo) e B (exposição primeiro ao placebo e depois ao corante), o gráfico mostra que as variabilidades são semelhantes e as medianas são discrepantes, sendo a mediana da seqüência B menor.

4 - Temperatura axilar

A síndrome febril pode ocorrer com a maioria das reações de hipersensibilidade, especialmente nas de tipo II (reação citotóxica), tipo III (reação por imunocomplexos) e tipo IV (reação retardada ou mediada por células), segundo a classificação de Gell e Coombs (Goldsby, R.A. et al, 2007; Caldas L.Q.A, 2006).

Temperatura Axilar (p-valor)			
Semana	Etapas	Sequência	Tempo
0,4904	0,5719	0,86	0,9038

A temperatura axilar não diferiu entre as semanas; etapas; seqüências e tempo.

5 - Pico de Fluxo Expiratório

O volume de ar que flui para fora dos pulmões, pode ser quantificado através de aparelhos de espirometria, identificando a obstrução ao fluxo de ar. Nos quadros alérgicos podem acontecer exacerbações da asma, com redução do pico de fluxo expiratório devido à broncoconstrição.

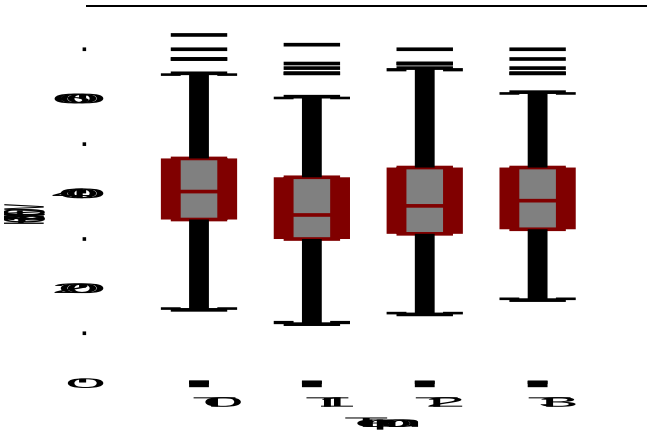
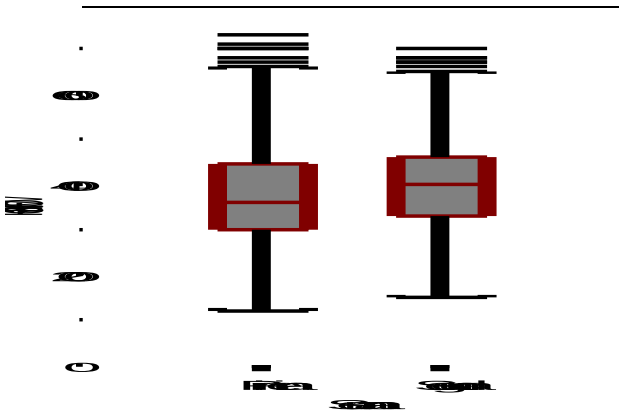
Pico de Fluxo Expiratório		
Semana A ($\bar{x} \pm DP$)	Semana B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
379,25 ± 109,59	401,82 ± 103,93	0,0035

p-valor	
Etapas	Sequência
0,2444	0,5721

Pico de Fluxo Expiratório				
Tempo 0 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 1 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 2 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 3 ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
412,14 ± 110,56	372,01 ± 108,20	385,58 ± 104,67	392,40 ± 102,73	0,0087

Gráfico 4: Comparação do PF entre semanas

Gráfico 5: Comparação do PF com o tempo



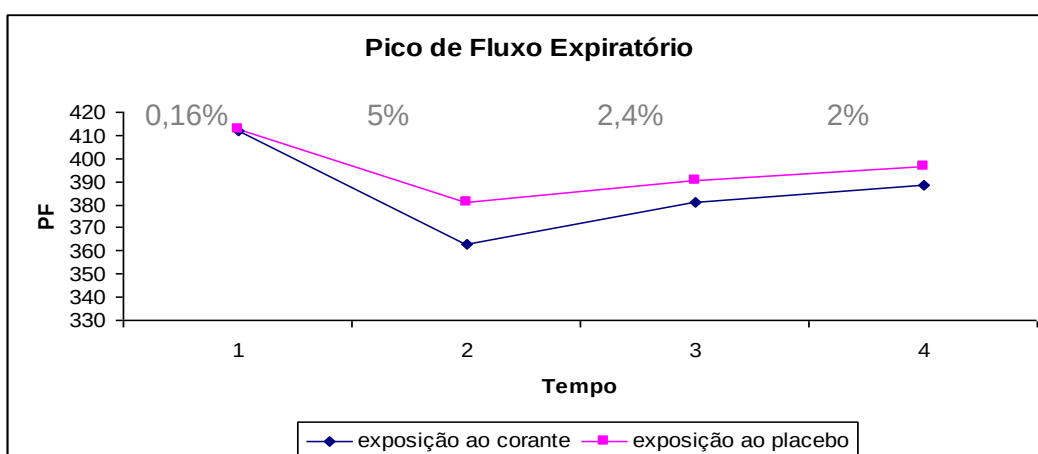
O pico de fluxo expiratório difere entre a primeira e segunda semana. Na primeira semana a média é menor; mais pacientes foram expostos ao corante (n=42) que ao placebo (n=27), mas também existe a possibilidade de que na segunda semana estivessem mais bem treinados no aparelho e por isso colaboraram mais fornecendo valores maiores.

As aferições do pico de fluxo expiratório também foram influenciadas pelo tempo, os valores do tempo zero (T0) são significativamente maiores do que nos três tempos de aferições realizadas 60 minutos após a ingestão de cada cápsula.

Exposição ao Placebo		Exposição ao Corante	
T0 x T1	$p \leq 4.458e-05$	T0 x T1	$p \leq 2.158e-07$
T0 x T2	$p \leq 0.002214$	T0 x T2	$p \leq 8.009e-05$
T0 x T3	$p \leq 0.02972$	T0 x T3	$p \leq 0.0008223$
T1 x T2	$p \leq 0.1117$	T1 x T2	$p \leq 0.01932$
T1 x T3	$p \leq 0.0542$	T1 x T3	$p \leq 0.000738$
T2 x T3	$p \leq 0.202$	T2 x T3	$p \leq 0.361$

Os valores obtidos nas aferições do PF durante a exposição ao corante apresentaram diminuição significativa entre os quatro tempos consecutivos; enquanto o mesmo não se repetiu nas aferições durante a exposição ao placebo, neste ocorre diferença apenas comparando o tempo zero com os demais consecutivos parecendo ser apenas um ajuste dos voluntários ao aparelho.

Gráfico 6: Comparação do PF nas etapas A e B com o tempo



No gráfico pode-se observar que no tempo zero as médias dos PF do corante e placebo são praticamente idênticas, enquanto no tempo 1 há uma queda de 5% na média do PF da exposição ao corante e nos tempos 2 e 3 as médias do PF com exposição ao corante se mantêm inferiores com alguma recuperação. Mostrando que ocorreu broncoconstrição após a ingestão do corante.

6 – Angioedema

É um inchaço que acontece nas mucosas, sendo mais freqüente nas pálpebras e lábios. Esse inchaço ocorre devido ao acúmulo de líquido nas camadas profundas de tecido da pele e costuma durar horas ou dias. O angioedema está associado à liberação de histamina e outras substâncias químicas na corrente sangüínea, como parte de uma resposta alérgica.

Angioedema		
Semana A ($\bar{x} \pm DP$)	Semana B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2045 $\pm$ 0,5711	0,1071 $\pm$ 0,4250	0,0047
Etapa A ($\bar{x} \pm DP$)	Etapa B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2045 $\pm$ 0,5653	0,1071 $\pm$ 0,4326	0,0023

Sequência (p-valor)
0,4438

Tempo 0 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 1 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 2 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 3 ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,0195 $\pm$ 0,14	0,1299 $\pm$ 0,44	0,2338 $\pm$ 0,59	0,2403 $\pm$ 0,66	0,0001

Gráfico 7: Angioedema X Semanas

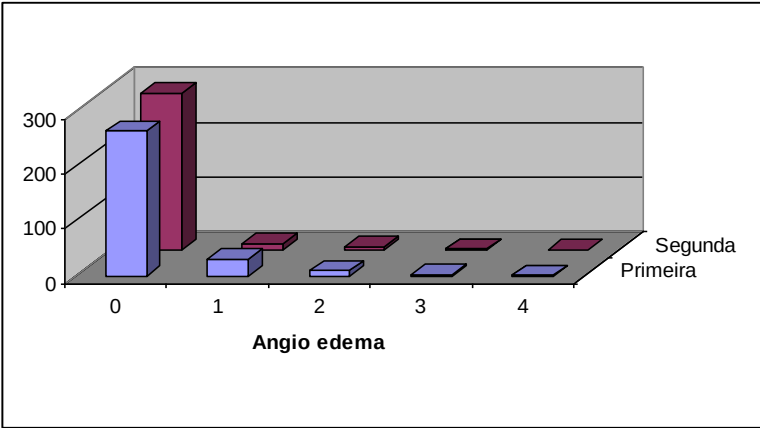


Gráfico 8: Angioedema X Etapas

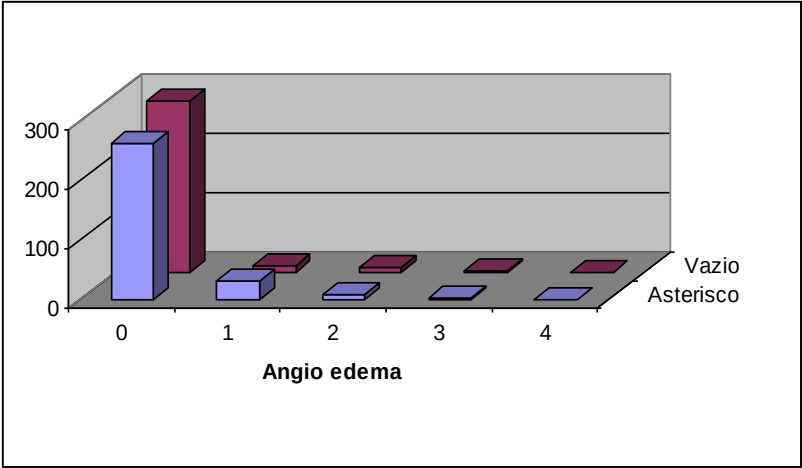
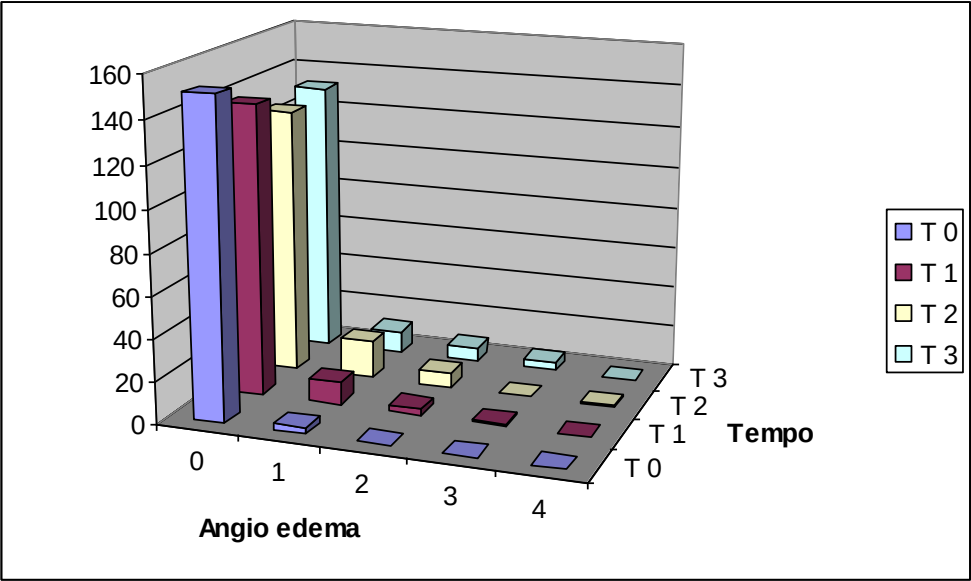


Gráfico 9: Angioedema X Tempo



O angioedema difere entre as semanas; etapas e tempos.

Na primeira semana a média foi maior do que na segunda semana; na etapa A (exposição ao corante) a média também foi maior do que na etapa B (exposição ao placebo), porque maior número de pacientes apresentou escores acima de zero, sugerindo que o angioedema foi provocado pelo corante.

Na avaliação realizada antes da exposição a média dos escores é consideravelmente mais baixa do que após o início do estudo, mostrando-se crescente nos três tempos subsequentes.

Sintomatologia Clínica das Vias Aéreas

A ativação dos mastócitos mucosos sobre o epitélio nasal por alérgenos que se difundem pela membrana mucosa das passagens nasais, resulta em edema local, levando a obstrução nasal, corrimento nasal e irritação do nariz por liberação de histamina (Janeway C. A. et al., 2000).

Nas crises alérgicas, é comum ocorrer hiper-reatividade brônquica, que determina o estreitamento das vias aéreas. Este fenômeno leva à tosse, sibilância (chiado no peito) e falta de ar, ou seja, taquipnéia.

7 - Espirro / Prurido

Espirro / Prurido			
Semana	Etapa	Sequência	Tempo
0,5418	0,36	0,2304	0,1234

Os sintomas de espirro e prurido nasal não diferem quanto às semanas; etapas; sequência e tempo; portanto não foram influenciados pela exposição ao corante.

8 - Congestão Nasal

Congestão Nasal		
Etapa A ($\bar{x} \pm DP$)	Etapa B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,3473 $\pm$ 0,5645	0,1981 $\pm$ 0,4527	0,0002

p-valor	
Semana	Sequência
0,4024	0,126

Congestão Nasal				
Tempo 0 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 1 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 2 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 3 ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,1818 $\pm$ 0,43	0,2597 $\pm$ 0,50	0,3377 $\pm$ 0,56	0,3117 $\pm$ 0,55	0,0413

Gráfico 10: Congestão nasal X Etapas

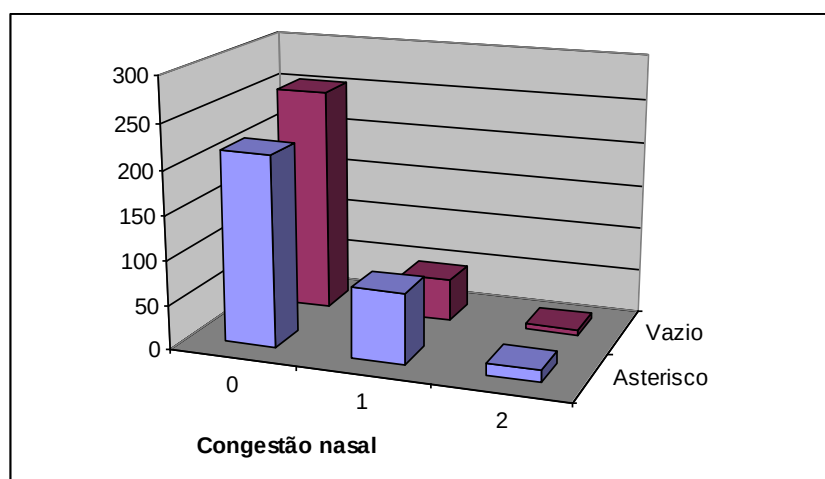
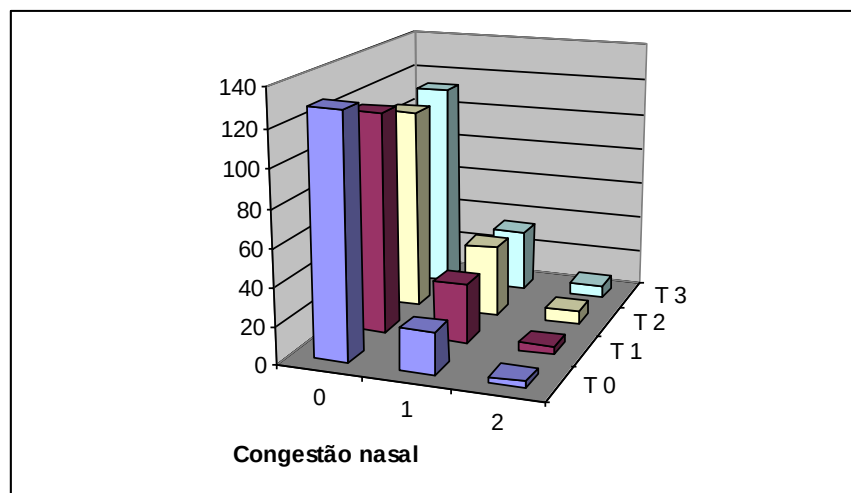


Gráfico 11: Congestão nasal X Tempo



O sintoma de congestão nasal difere significativamente entre as etapas e os tempos de avaliação. A média na etapa A (exposição ao corante) é maior do que na etapa B (exposição ao placebo), sugerindo ser causada pelo corante em estudo.

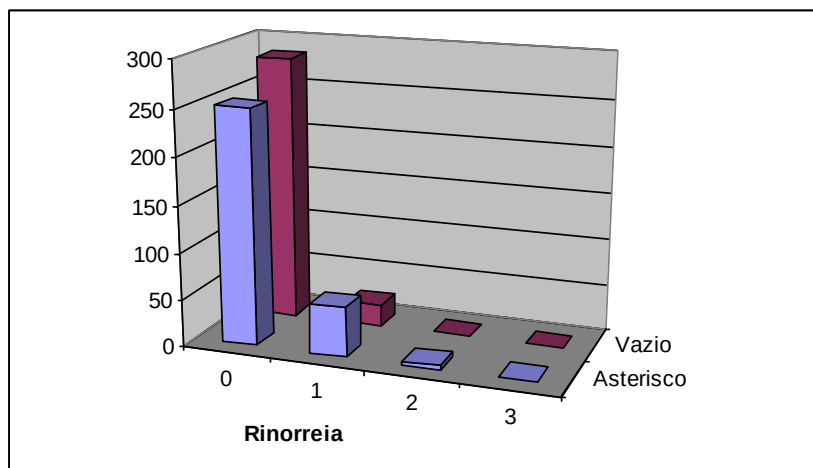
A média das aferições antes do início das exposições também foi menor do que as médias após a administração sequencial das cápsulas durante a pesquisa.

9 - Rinorréia

Rinorréia		
Etapa A ($\bar{x} \pm DP$)	Etapa B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2078 $\pm$ 0,4591	0,0812 $\pm$ 0,2852	0,0001

p-valor		
Semana	Sequência	Tempo
0,2415	0,3499	0,3742

Gráfico 12: Rinorréia X Etapas



O sintoma de rinorréia diferiu entre as etapas A e B, sendo que na etapa de exposição ao corante a média calculada para o escore do sintoma de rinorréia foi maior que a média na etapa de exposição ao placebo. Indicando que há influência do corante estudado no aparecimento e agravamento deste sintoma.

10 - Sibilância

Sibilância		
Semana A ($\bar{x} \pm DP$)	Semana B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,0844 $\pm$ 0,3601	0,0292 $\pm$ 0,2037	0,0162
Etapa A ($\bar{x} \pm DP$)	Etapa B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,0909 $\pm$ 0,3776	0,0227 $\pm$ 0,1697	0,0048

p-valor	
Sequência	Tempo
0,3135	0,7026

Gráfico 13: Sibilância X Etapas

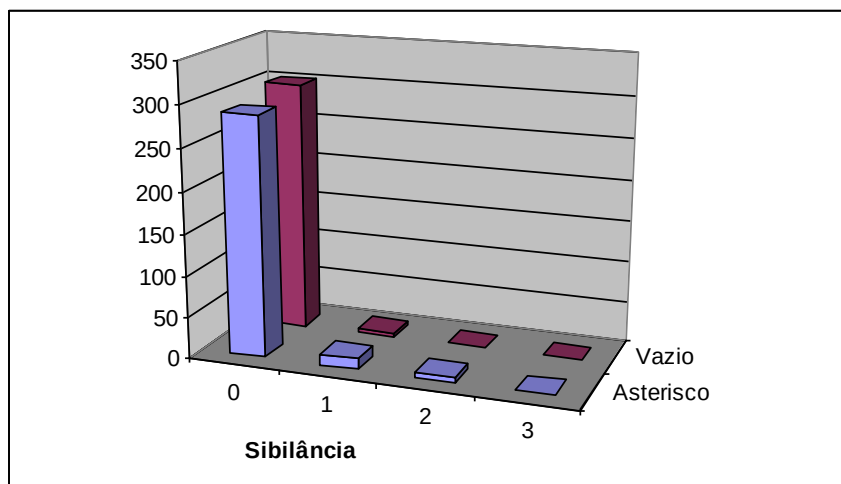
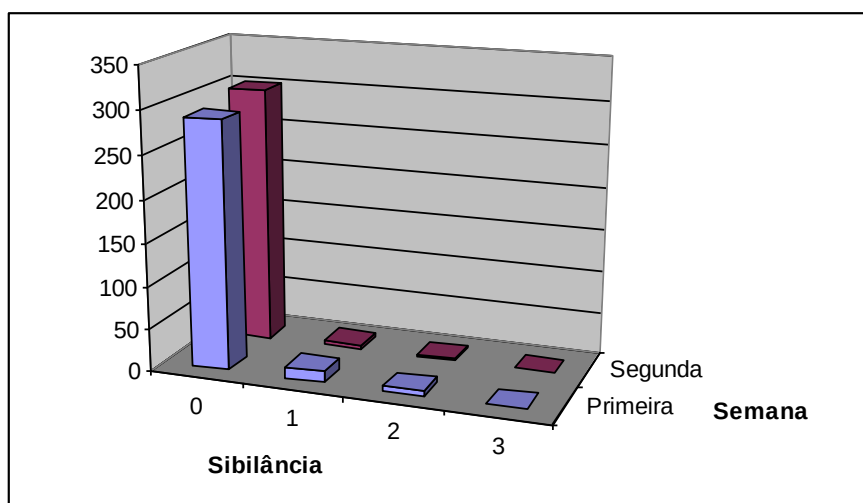


Gráfico 14: Sibilância X Semanas



A sibilância diferiu entre as semanas e as etapas do estudo.

Na primeira semana a média dos escores clínicos foram maiores, há a possibilidade de esse resultado ter ocorrido em função de maior número de pacientes terem sido expostos ao corante na primeira semana. A interferência do corante se confirma com a média também maior na etapa de exposição ao corante do que na etapa de exposição ao placebo.

11 – Tosse

Tosse			
Semana	Etapas	Sequência	Tempo
0,0995	0,1084	0,1318	0,9875

Não houve diferença entre as semanas; etapas; sequência e tempo.

Sintomas cutâneos

A ativação local dos mastócitos na pele leva a um aumento local na permeabilidade vascular, que causa extravasamento de líquido; também estimula reflexos nos axônios nervoso causando a dilatação dos vasos sanguíneos cutâneos circundantes. A lesão cutânea resultante é denominada reação pápulo-eritematosa; horas após o início da reação surge uma resposta edematosa mais disseminada e contínua em alguns indivíduos, como consequência da resposta de fase tardia. Uma forma disseminada da reação pápulo-eritematosa é conhecida como urticária, que algumas vezes ocorre quando os alérgenos ingeridos penetram na corrente sanguínea e atingem a pele. A histamina liberada pelos mastócitos locais e ativada pelo alérgeno produz grandes placas eritematosas e pruriginosas na pele.

12 - Rash Cutâneo

Rash Cutâneo		
Semana A ($\bar{x} \pm DP$)	Semana B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,1851 $\pm$ 0,5368	0,0779 $\pm$ 0,3431	0,0008

Etapa	Sequência
0,0863	0,2615

Tempo 0 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 1 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 2 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 3 ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,013 $\pm$ 0,11	0,1233 $\pm$ 0,44	0,1688 $\pm$ 0,50	0,2208 $\pm$ 0,60	0,0001

Gráfico 15: Rash Cutâneo X Semanas

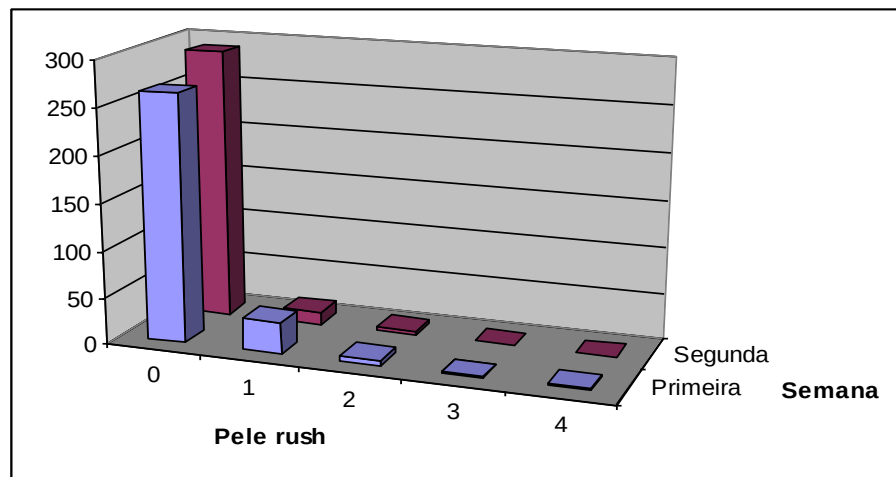
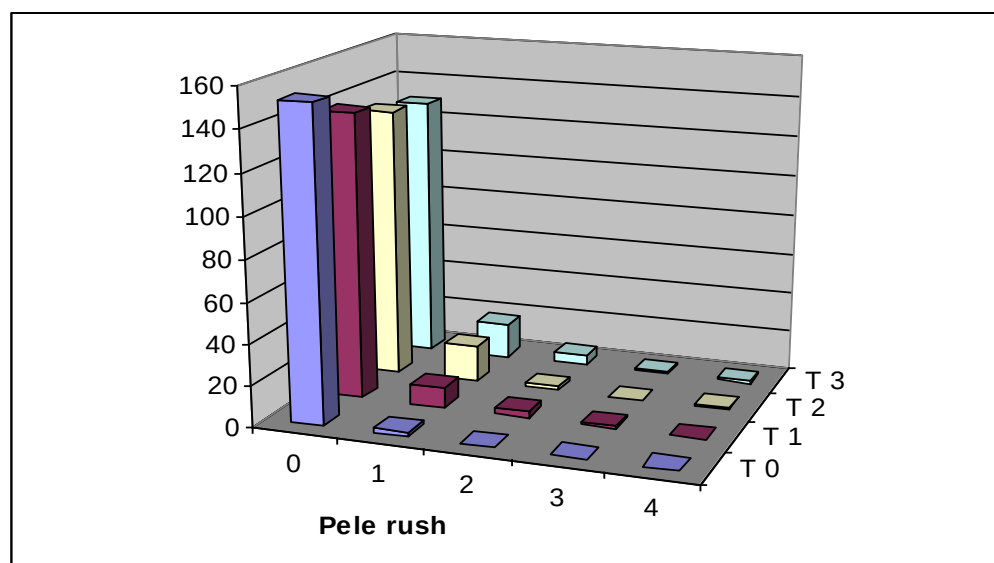


Gráfico 16: Rash X Tempo



O rash cutâneo diferiu entre as semanas e entre os quatro tempos. Na primeira semana a média dos escores foram maiores do que na segunda semana e como já citado anteriormente na semana A um número maior de voluntários foi exposto à tartrazina.

A média dos escores no tempo zero, antes do início do estudo, foi bem menor do que 60 minutos após a ingestão da cápsula de 5 mg (T1) e as médias foram sucessivamente maiores após a ingestão das cápsulas de 10 mg (T2) e 20 mg (T3), mostrando que há relação entre o corante estudado e o aparecimento do rash na pele.

13 - Prurido Cutâneo

Prurido Cutâneo		
Semana A ($\bar{x} \pm DP$)	Semana B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2370 $\pm$ 0,55	0,1526 $\pm$ 0,43	0,043
Etapa A ($\bar{x} \pm DP$)	Etapa B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2403 $\pm$ 0,55	0,1494 $\pm$ 0,42	0,0169

Sequência (p-valor)	0,8962
------------------------	--------

Tempo 0 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 1 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 2 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 3 ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,0065 $\pm$ 0,08	0,1623 $\pm$ 0,46	0,3052 $\pm$ 0,60	0,3052 $\pm$ 0,59	< 0,0001

Gráfico 17: Prurido Cutâneo X Etapas

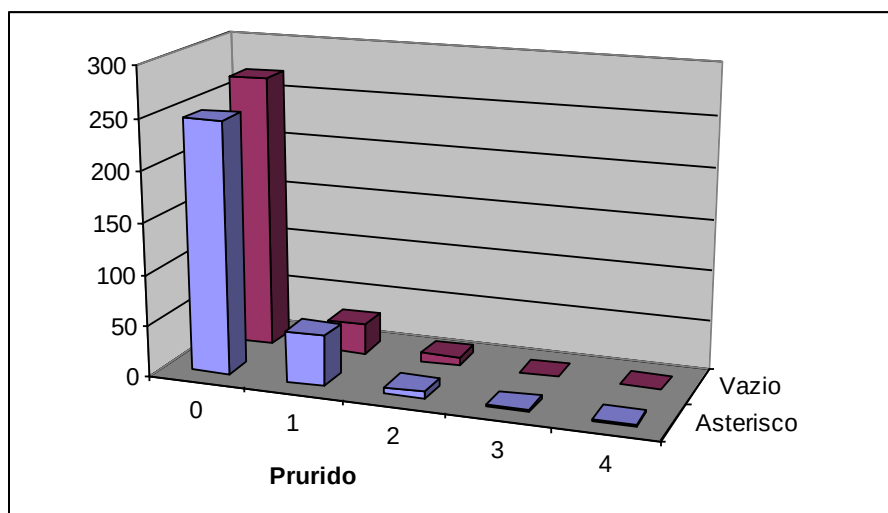
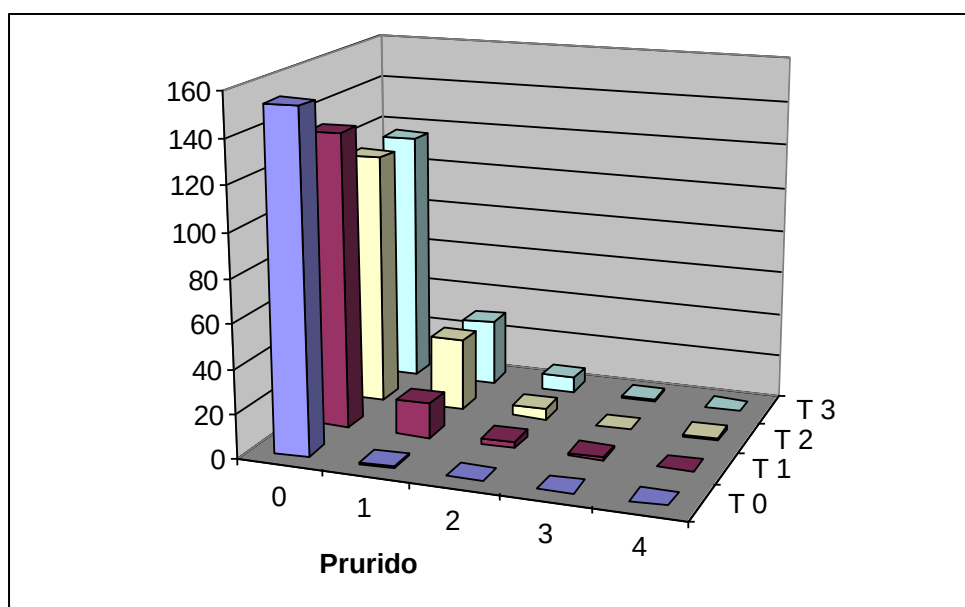


Gráfico 18: Prurido Cutâneo X Tempo



O sintoma de prurido cutâneo difere entre as semanas; etapas e tempos de avaliação. Na primeira semana a média dos escores clínicos foi maior do que na segunda semana, assim como na etapa A (exposição ao corante) foi maior do que na etapa B (exposição ao placebo); sugerindo que a exposição à tartazina seja a causa do aparecimento e agravamento do sintoma.

A média do escore na avaliação antes do início do estudo foi muito menor do que após a exposição ao corante e crescente nos tempos T1, T2 e T3, avaliados após a ingestão das cápsulas de 5 mg, 10 mg e 20 mg.

14 – Urticária

Urticária		
Semana A ($\bar{x} \pm DP$)	Semana B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2110 $\pm$ 0,5744	0,1071 $\pm$ 0,4401	0,0015
Etapa A ($\bar{x} \pm DP$)	Etapa B ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2208 $\pm$ 0,5903	0,0974 $\pm$ 0,4158	0,0002

Sequência (p-valor)	0,5376
------------------------	--------

Tempo 0 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 1 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 2 ($\bar{x} \pm DP$)	Tempo 3 ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,0195 $\pm$ 0,14	0,1299 $\pm$ 0,44	0,2273 $\pm$ 0,59	0,2597 $\pm$ 0,68	0,0001

Gráfico 19: Urticária X Semanas

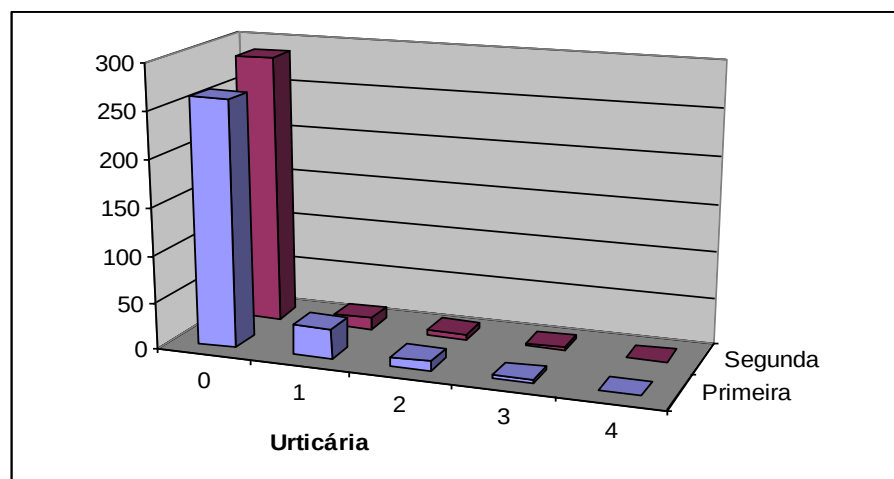


Gráfico 20: Urticária X Etapas

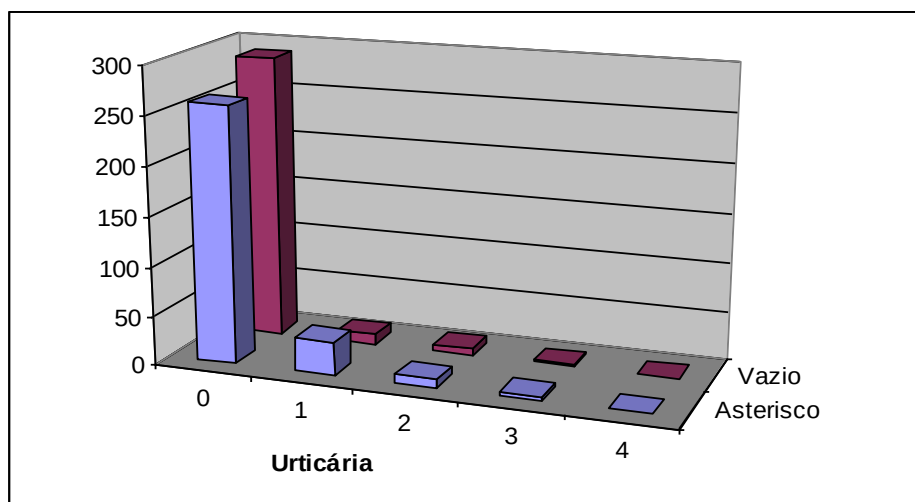
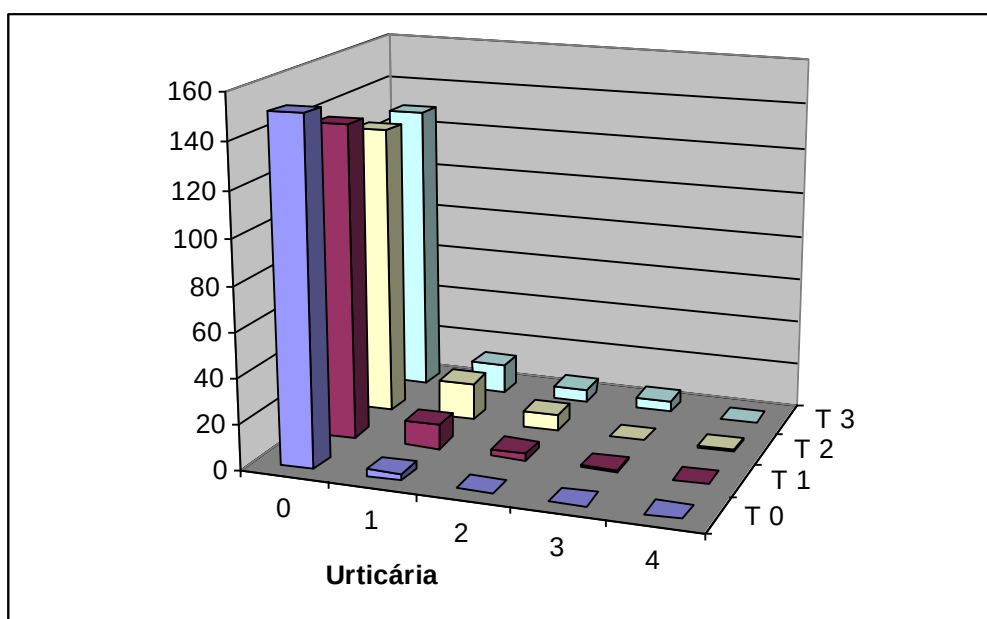


Gráfico 21: Urticária X Tempo



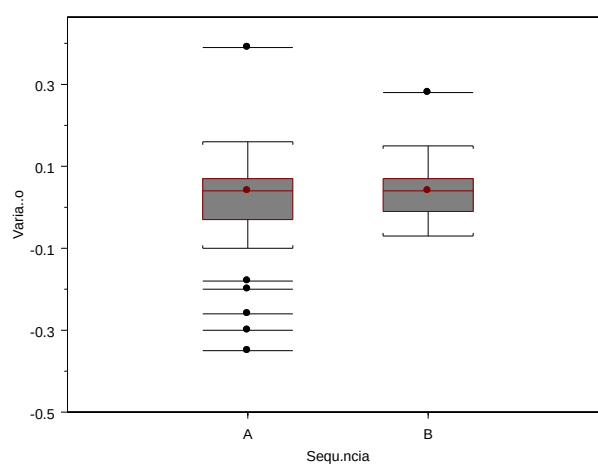
A urticária apresentou diferenças significativas entre as semanas; etapas e tempos de avaliação. Na primeira semana e na etapa de exposição ao corante as médias dos escores foram maiores, sugerindo que o corante é responsável pelo aparecimento e amplificação do sintoma. Além disso, a média dos escores foi crescente nos tempos de avaliação pré-estudo, após a cápsula de 5mg, 10mg e 20mg.

Análises Laboratoriais:

15 - IgE alérgeno-específica:

IgE tartrazina		
IgE pré ($\bar{x} \pm DP$)	IgE pós ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0.1983 $\pm$ 0,087	0.2203 $\pm$ 0,074	0,4829

Gráfico 22: IgE Tartrazina X Sequência



Nesse teste foram utilizadas as variações da IgE alérgeno-específica antes e depois da exposição, comparando estas variações nas seqüências A e B. O p-valor foi de 0,48 e portanto, não houve diferença na variação da IgE tartrazina entre os indivíduos que tomaram primeiro placebo ou primeiro tartrazina.

Tabela VI – Resumo dos resultados obtidos para IgE alérgeno-específica

IgE Tartrazina						
	Admissão	Final	Classe 0*		Classe 1**	
			Antes	Após***	Antes	Após***
Min:	0.10000000	0.11000000	0.10000000	0.11000000	0.17000000	0.36000000
1st Qu:	0.15750000	0.18000000	0.15000000	0.18000000	0.17500000	0.40500000
Mean:	0.19565789	0.22045455	0.19746032	0.20904762	0.18333333	0.46000000
Median:	0.18000000	0.20500000	0.18000000	0.20000000	0.18000000	0.45000000
3rd Qu:	0.20000000	0.24750000	0.20000000	0.23500000	0.19000000	0.51000000
Max:	0.58000000	0.57000000	0.58000000	0.35000000	0.20000000	0.57000000
Total N:	76	76	63	63	3	3
NA's:	0.00000000	10	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000
Std Dev:	0.08332003	0.07420205	0.09010689	0.05005527	0.01527525	0.1053565

*valor de corte < 0.35 KU/L; ** valor de corte 0.35-0.7 KU/L; ***Desafios ;

A dosagem da IgE tartrazina na admissão forneceu uma média de 0,1957 KU/L, e a média da dosagem no final do estudo foi de 0,2205 KU/L com uma perda de 10 pacientes. Dos 66 voluntários, nos quais foram concluídas as duas análises para IgE alérgeno-específica, 63 pacientes se mantiveram na classe 0 e 3 pacientes evoluíram de classe 0 para classe 1. Os valores até 0,35 KU/L (classe 0) são considerados negativos e os valores entre 0,35 e 0,7 KU/L (classe 1) são considerados positivos para o diagnóstico da alergia. Então, 4,55% do total de voluntários apresentaram valores negativos na admissão e valores positivos na dosagem 48 horas após a segunda etapa de exposição.

É importante ressaltar ainda que os resultados obtidos no presente estudo não foram significativos utilizando o valor de corte oferecido pelo kit (0,35 KU/L). No entanto, a presença de pacientes com IgE tartrazina circulantes por si só demonstra algum grau de hipersensibilidade, uma vez que não é um achado comum em pessoas não-atópicas, e esses indivíduos foram classificados como negativos.

16 - Leucotrieno Urinário:

Leucotrieno Urinário		
Corante ($\bar{x} \pm DP$)	Placebo ($\bar{x} \pm DP$)	p-valor
0,2319 $\pm$ 0,21	0,1668 $\pm$ 0,16	0,3315

O nível de leucotrieno urinário não mostrou diferença entre os pacientes expostos ao corante e os expostos ao placebo na segunda semana.

DISCUSSÃO

O corante amarelo tartrazina é largamente utilizado em formulações de alimentos, medicamentos e cosméticos; com a finalidade de melhorar o aspecto visual e padronizar sua coloração de modo a aumentar sua aceitabilidade e comercialização. Muitos casos de sensibilidade à tartrazina foram reportados a partir da década de 70 (Dipalma J.R., 1990). Lockey S.D. (1959) foi o primeiro autor a relatar uma possível associação entre a administração da tartrazina e urticária; em seguida inúmeros estudos foram desenvolvidos para testar a segurança e a ocorrência de reações alérgicas induzidas por este aditivo. Apesar disso, a revisão bibliográfica realizada demonstrou que ainda existe uma grande divergência de opiniões a respeito do potencial alergênico deste corante, considerado de baixa incidência e de prevalência desconhecida (Corder E.H. et al., 1995), existem também diferentes opiniões a respeito da participação do sistema imunológico na fisiopatologia da resposta alérgica.

No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) passou a dar atenção especial a este corante desde 2002, quando começou a promover Debates científicos com especialistas. Através dessas discussões foi concluído que a maioria dos estudos era inadequada quanto à abordagem metodológica, com a população estudada selecionando doentes crônicos e não agudos; e com a padronização para diagnóstico de forma a avaliar corretamente a causa da reação adversa, sendo necessário utilizar a provocação oral por meio da metodologia de Duplo Cego Placebo Controlado. Baseada nessas conclusões a ANVISA tomou a iniciativa de incentivar novas pesquisas, inclusive o presente estudo, para gerar dados científicos com metodologias adequadas; a RE Nº 572 publicada no ano

de 2002 determinou que produtos que contenham o corante devem especificá-lo por extenso na lista de ingredientes no rótulo; além da obrigatoriedade da seguinte advertência, na bula e no cartucho de medicamentos, “Este produto contém o corante amarelo TARTRAZINA que pode causar reações de natureza alérgica, entre as quais asma brônquica, especialmente em pessoas alérgicas ao Ácido Acetil Salicílico”.

No presente estudo foi observado que a presença dos sintomas cutâneos como o angioedema, o rash, o prurido e a urticária foram desencadeados pela exposição ao corante amarelo tartrazina. Pois, foram influenciados pelas etapas de exposição ao corante e ao placebo, com exceção do rash; e todos se agravaram com a administração das doses consecutivas, evoluindo com os tempos de avaliação, que se realizaram no momento inicial de admissão e após cada cápsula com as doses de 5mg, 10mg e 20mg.

Os sinais clínicos utilizados para monitorar as vias aéreas também foram bastante influenciados pela exposição ao corante em estudo. As manifestações de rinorréia e sibilância apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre as etapas estudo e placebo. A congestão nasal mostrou diferença entre as etapas e entre os tempos de avaliação, uma vez que a se agravou com a administração das doses sucessivamente crescentes. O Pico de Fluxo Expiratório apresentou significativa redução entre as quatro aferições, também realizadas no momento da admissão e após cada uma das três cápsulas administradas aos voluntários, sofrendo uma diminuição de até 5% quando comparado com o PF aferido na exposição ao placebo.

Entretanto algumas das manifestações clínicas observadas durante o ensaio clínico mostraram pouca ou nenhuma influência devido à ingestão da tartrazina, como a temperatura corpórea, tosse, espirros, prurido nasal e frequência respiratória. Os parâmetros cardiocirculatórios de pressão arterial sistólica e diastólica e frequência cardíaca não serão objeto de discussão nesta oportunidade, porém foram incluídos na publicação de Moraes L.S.T., Piumbini R.G e Caldas L.Q.A. (2010).

Worm M. e cols (2001) na pesquisa dos possíveis mecanismos patológicos envolvidos na intolerância alimentar, que induz o agravo desta doença, realizaram um estudo com o objetivo de determinar a produção de sulfidoleucotrienos em pacientes portadores de dermatite atópica (AD) com clínica relevante de intolerância a alimentos confirmada com um DCCP, utilizando leucócitos isolados do sangue periférico após estimulação com diferentes aditivos alimentares. A produção de leucotrieno nos leucócitos periféricos foi detectada através da incubação das células isoladas com os aditivos em diferentes concentrações, variando de 0,2 a 200 mg/ml após pré-estimulação com IL-3. Investigaram dez doadores não-atópicos (A), nove pacientes portadores de AD com resposta a provocação oral negativa (B) e nove pacientes portadores de AD com respostas positivas após provocação oral (C). Verificaram que no grupo não-atópico (A) não foi observado aumento da liberação de sulfidoleucotrieno (sLT) para todos os aditivos testados. No grupo B o aumento da produção de sLT foi determinada usando tartrazina em um paciente (1/9) e usando nitrito em 2 pacientes (2/9), enquanto a produção de sLT permaneceu abaixo do valor de corte referência em todos os pacientes do grupo B (9/9) usando benzoato, metabissulfito e salicilato. Em contraste com o grupo C, no qual se observou aumento na produção de sLT com mistura de corantes em 1/9 dos pacientes, com tartrazina em 3/9, com benzoato em 4/9, com nitrito em 5/9, com salicilatos em 2/9 e com metabissulfito em 1/9. Os autores concluíram que o aumento da produção de sLT por leucócitos periféricos na presença de aditivos alimentares sozinhos foi observada na maioria dos pacientes com intolerância alimentar provada pelo DCCP, particularmente tartrazina, benzoato e nitrito. Sugerindo que os aditivos sozinhos são fator de agravamento da dermatite atópica e podem desencadear a doença através da elevação da produção de sLT como mecanismo de ação fisiopatológica.

Neste estudo, não se observou alteração nos níveis de leucotrienos urinários analisados. Porém, não foi possível realizar a análise para todos os voluntários e por isso não se pode corroborar as afirmações dos autores supra-citados em relação aos achados desse parâmetro laboratorial.

Outro parâmetro avaliado foi a IgE alérgeno-específica, 4,55% dos pacientes apresentaram considerável elevação da IgE tartrazina, passando de classe 0

(negativo para alergia conforme especificações do kit) na análise realizada antes do estudo para classe 1 (positivo) na dosagem após o término do ensaio clínico. Esse percentual de pacientes mesmo não tendo sido estatisticamente significativo, é de grande importância clínica demonstrando a hipersensibilidade, considerando que não é um achado comum em pessoas não-atópicas. A técnica de dosagem da IgE específica para tartrazina é muito recente e infelizmente existem poucos estudos que possam ajudar a compreender esse achado laboratorial, possivelmente um estudo com um número maior de voluntários encontraria maior percentual de pacientes com elevação significativa de IgE específica.

Segundo Warrington R.J. e cols (1986), a urticária crônica induzida por aditivos é histologicamente semelhante à resposta imune mediada por células, para essa constatação realizaram um estudo *in vitro* com células de controles normais; de pacientes portadores de urticária crônica e asmáticos; no qual foi medida a liberação de linfocinas derivadas de células T (LIF) em resposta à incubação com aditivos. Verificaram uma significativa produção do fator de inibição de leucócitos (LIF) em resposta a tartrazina nas células de indivíduos portadores de urticária crônica induzida por aditivos; além da liberação do LIF em células mononucleares de asmáticos ter sido provocada pela presença da tartrazina. Sugeriram então uma possível resposta imune mediada por células induzida por aditivos alimentares.

No presente estudo observamos o aumento da produção da IgE específica para tartrazina após a exposição ao corante, corroborando para a sugestão de uma resposta alérgica com participação do sistema imunológico.

Todavia, Warin R.P. e cols (1982), se posicionam contrários de acordo com os achados de seu estudo com 317 pacientes para tentar desvendar o papel da tartrazina na urticária. Dos 317 voluntários desafiados, 40 (13%) reagiram a tartrazina e 28 destes também reagiram a salicilatos. A partir dos 40 pacientes portadores de urticária crônica que reagiram a 10mg de tartrazina foram selecionados 20, dos quais 12 concordaram em comparecer ao hospital para mais testes. A cada paciente foram administradas 3 cápsulas idênticas – lactose; 10mg de tartrazina e lactose – que foram ingeridas em manhãs alternadas. Uma a quatro semanas depois, uma cápsula de 1mg de tartrazina foi administrada com outros dois

corantes como parte de investigação diferencial. O desenvolvimento de pápulas espalhadas entre 2 e 8 horas após a exposição foi relatado como resposta positiva, sete pacientes não reagiram a 10mg e 1mg; três pacientes reagiram a 10 mg mas não reagiram a 1mg do corante; dois pacientes reagiram a exposição de 10mg e 1mg do aditivo. O efeito foi considerado quantitativo uma vez que dois pacientes reagiram a 1mg de tartrazina apresentando urticária. Em outra série de 56 pacientes com urticária crônica imediata e tardia (após 48 horas) avaliada em teste cutâneo, este foi procedido com 2% de tartrazina; sendo que todos foram negativos incluindo quatro pacientes que reagiram a teste oral de 10mg da substância. Desse modo, os autores acreditam que as reações provavelmente não ocorrem devido a mecanismos alérgicos, mas sim a alguma ação farmacológica (não-IgE dependente), presumem que tartrazina e salicilatos possuem algum efeito não-específico na produção de metabólitos que induzem as pápulas de urticária.

Vargaftig B.B. (1980), realizou um estudo *in vitro* com sangue humano e de ratos e observaram que nem a tartrazina nem seu metabólito, o ácido sulfanílico, inibiram a síntese de prostaglandinas pelas plaquetas. Concluindo ser improvável que a asma induzida por tartrazina resulte da inibição da biossíntese de prostaglandinas. John G, também avaliou o efeito da tartrazina na produção de prostaglandinas *in vitro*, para elucidar a relação entre asma sensível à aspirina e tartrazina, mas diferente dos AINES a tartrazina não inibiu a atividade da cicloxigenase (COX) por plaquetas humanas e de porquinhos da Índia. Confirmando que a tartrazina não tem efeito na ativação da acilhidroxilase, que é etapa limitante na produção de prostaglandinas; assim como seu metabólito o ácido sulfanílico também não ocasionou esse efeito. Dessa forma, concluiu-se que a possível reação cruzada de sensibilidade entre aspirina e tartrazina em pacientes asmáticos sensíveis ao AAS, não seja baseada na inibição de prostaglandinas.

A reação alérgica pode provocar hiperatividade nos pulmões, com aumento de muco nas vias aéreas, contração dos brônquios e bronquíolos; dessa forma espera-se que o Pico de Fluxo Expiratório reduza com a exposição ao corante.

A resposta bronco-obstrutiva, avaliada através do PF, foi observada por Hong S.P. e cols (1989), no seu estudo com aditivos alimentares. No qual administrou 10

mg de tartrazina a pacientes asmáticos e constatou a redução do PF em 19,44% dos indivíduos. Além disso, um voluntário desenvolveu urticária após a exposição ao AAS e a tartrazina; outro apresentou espirrros e rinorréia na exposição a tartrazina.

No presente estudo essa hipótese foi confirmada através do teste de Kruskal-Wallis que forneceu um p-valor de 0,087 na comparação entre os valores do PF nos 4 tempos de avaliação, mostrando que houve redução significativa no PF aferido antes da exposição (T0) e após as três cápsulas contendo a tartrazina nas concentrações de 5, 10 e 20mg. Comparando ainda com as aferições do PF realizadas na exposição ao placebo observamos uma diminuição de até 5% na etapa de exposição ao corante.

Corder E.H. e cols (1995), encontraram a redução de pelo menos 15% no PF, com a administração de 3,4mg de tartrazina em 193 pacientes (14,6% do universo estudado). Os autores sugeriram que doses de tartrazina entre 3.4mg e 885.6mg podem ser usadas com segurança em estudos epidemiológicos, portanto a concentração de 35mg totalizada com as três cápsulas oferecidas aos voluntários no presente estudo estão de acordo com a faixa segura.

Nettis E. e cols (2003) realizaram um estudo com o objetivo de determinar a incidência de intolerância à tartrazina em indivíduos com história pregressa de episódios agudos de urticária e/ou angioedema seguido da ingestão de alimentos ou produtos contendo essa substância. O estudo foi inicialmente retrospectivo baseado na análise dos dados consecutivos referentes ao período de 1999 a 2000 da Clínica de Alergia da Universidade de Bari, com pacientes que reportaram episódios de urticária e/ou angioedema após a ingestão de alimentos ou produtos contendo tartrazina, que então foram submetidos a um desafio DCCP. Em todos os casos os sintomas cutâneos foram diagnosticadas por um médico e foi feito um relatório detalhado sobre a reação adversa. Os pacientes foram advertidos a excluir da dieta qualquer aditivo e antihistamínicos por no mínimo 7 dias antes da avaliação, não fazer uso de nenhuma medicação nas 48 horas anteriores e na véspera compareciam na clínica para verificar as exigências e sintomas que impedissem a inclusão na pesquisa. Os testes cutâneos desse estudo foram realizados para os alérgenos inalatórios e alimentares comuns, com histamina (10mg/ml) como controle

positivo e salina como controle negativo, pápulas de 3 mm ou maiores foram consideradas positivas na ausência de reação à salina. A determinação de IgE específica no soro foi considerada positiva para o RAST com valores $> 0,35\text{KU/L}$. A avaliação durou 5 dias, no 1º dia receberam cápsulas opacas de placebo e se nenhum sintoma fosse observado o DCCP era feito após 48 horas. No 3º dia os pacientes randomizados receberam placebo e no 5º dia tartrazina ou o 3º dia tartrazina e no 5º dia placebo, em doses crescentes de 5, 10 e 20mg, com intervalos de 2 horas se não surgissem sintomas. Os sinais vitais foram monitorados e apenas a presença da urticária e do angioedema foram consideradas respostas positivas, todos os pacientes permaneceram por 2 horas após o término da avaliação e compareceram ou telefonaram após 48 horas para excluir reação tardia. Verificaram que do total de 102 indivíduos estudados, 19 (18.6%) mostraram ao final uma reação positiva relevante em testes para IgE a alergia alimentar. Apenas um indivíduo (1%) apresentou reação após ingestão de 5mg de tartrazina, administrada no dia 5 e não apresentou reação ao placebo. A paciente com resposta positiva apresentou 15 minutos após a ingestão da primeira dose rubor facial, prurido cutâneo e urticária, seus sintomas desapareceram em poucas horas após tratamento com antihistamínicos, corticóides e epinefrina. Os autores concluíram que a tartrazina induz urticária e/ou angioedema agudos, mas numa percentagem muito baixa (1%); que a história prévia não é um bom indicador para possível hipersensibilidade a aditivo porque os pacientes não conhecem todos os aditivos que ingerem diariamente; sugere-se ainda que existem casos que não há um antígeno conhecido que cause a urticária e o angioedema sendo considerada uma doença idiopática.

No presente estudo observou-se que a maior percentagem das manifestações agudas dos mesmos sinais clínicos avaliados no estudo citado anteriormente. Verificamos que 21% dos voluntários apresentaram o angioedema e 26% apresentaram a urticária. Portanto, os resultados nos levam a discordar da suposição de que o aparecimento da urticária e do angioedema são de causa idiopática. Esses achados clínicos sugerem que o corante amarelo tartrazina causa os sintomas de urticária e angioedema agudos.

Todos esses resultados discutidos estão de acordo com os estudos de Sampson H.A. e cols (1999), que concluem em seu estudo que a pele e o sistema respiratório são os mais afetados pelas reações alérgicas induzidas por alimentos mediadas por IgE; e ainda segundo Dipalma J.R. e cols. (1990) a sensibilidade à tartrazina se manifesta principalmente como asma e urticária.

A resposta alérgica é avaliada clinicamente e pela detecção do anticorpo IgE típico marcador da sensibilidade atópica, este pode ser diagnosticado por duas técnicas: indiretamente por teste cutâneo e diretamente pelo teste radioalergosorbente (RAST). O RAST determina a IgE no soro com resultados quantitativos e algumas vezes fornece um resultado positivo sem alergias aparentes. Schoefer Y. (2008) em seu estudo avaliou os participantes no período de 1994/95 registrando um valor basal para 5 alérgenos inalantes comuns pelo RAST e posteriormente reavaliou no período de 2004/05. Observou que um terço dos 2656 pacientes apresentou sensibilidade a algum alérgeno. O RAST teve importante impacto na predição da incidência de febre de feno e asma, igualmente em crianças e adultos. Tanto o teste cutâneo quanto o RAST podem ter resultados positivos sem clínica aparente, sendo que só o RAST é quantitativo e teve grande valor preditivo indicando quando positivo sem reações aparentes um maior risco de desenvolvimento de alergias. Concluindo que o RAST não cobre só alergias clinicamente aparentes, mas também indica fator prognóstico para alergias futuras, mesmo em adultos. Grond K (1976), confirma o RAST como valioso método de diagnóstico da alergia, em seu estudo demonstra que a IgE pode ser quantificada pelo RAST, mesmo quando a elevação da IgE é encontrada em baixas concentrações (ng) como no eczema atópico.

Novas técnicas estão constantemente surgindo para auxiliar os estudos e o diagnóstico das reações alérgicas, como o novo método de avaliação da transparência da pele com um colorímetro em resposta a corantes amarelos. Mochizuki e cols (2009), publicaram um estudo com um grupo controle sadio e outro portador de dermatite atópica submetidos a provocação oral com a tartrazina para avaliar o valor de diagnóstico da técnica de medida do índice de transparência da pele. A medida da coloração da pele em indivíduos que ingeriram tartrazina mostrou bons resultados; teve uma significativa relação entre o índice de transparência com

tartrazina e o escore de dermatite atópica ($p=0,014$). O escore do índice de transparência da pele obtido após a exposição à tartrazina em pacientes com dermatite atópica foi significativamente maior do que o obtido com os controles ($p<0,0001$). Assim, concluíram que esse método, que utiliza um colorímetro e aditivos alimentares, não é invasivo, seguro e confiável para a avaliação da transparência da pele e pode demonstrar as características da disfunção das barreiras da pele em pacientes com dermatite atópica.

CONCLUSÃO

Os dados consolidados e analisados estatisticamente mostraram que alguns parâmetros clínicos apresentaram alterações significativas relacionadas à exposição ao corante; como Pico de Fluxo Expiratório, angioedema, congestão nasal, rinorreia, sibilância, rash, prurido cutâneo e urticária. Enquanto nas aferições de frequência respiratória, temperatura axilar, espirro/prurido nasal e tosse não apresentaram diferenças significativas entre as exposições ao placebo e corante. Os resultados sugeriram que a possível reação alérgica induzida pela tartrazina se manifeste principalmente com sinais e sintomas na pele, assim como as vias aéreas, afetando menos ou não interferindo nos parâmetros cardiocirculatórios.

Foram observadas ainda discretas alterações nos níveis de IgE tartrazina, que não foram estatisticamente significativas, mas afetaram 5% da população em estudo. Os resultados indicaram a necessidade de estudos futuros para desvendar sua possível função fisiopatológica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Considerações sobre o corante amarelo tartrazina. Informe Técnico nº. 30, de 24 de julho de 2007.

ANVISA. RESOLUÇÃO - RE Nº 572, DE 5 DE ABRIL DE 2002. Legislação em Vigilância Sanitária.

Ardern KD, Ram FS. Tartrazine exclusion for allergic asthma. Cochrane Database of Systematic Reviews 2001; (4): CD000460.

Bock SA, Sampson HA, Atkins FM, Zeiger RS, Lehrer S, Sachs M, Bush RK, Metcalfe DD. Double-blind, placebo-controlled food challenge (DBPCFC) as an office procedure: a manual. J Allergy Clin Immunol. 1988 Dec; 82 (6): 986-997.

Caldas L.Q.A. Evento Sentinela em Saúde Ocupacional: Mudanças da Temperatura Corporal. Jornal Brasileiro de Medicina 2006; 90 (6): 55-73.

Caldas LQA - Comunicação pessoal: Encontro sobre Avaliação da Segurança da Tartrazina, Brasília, 2002.

Campo P., Rodriguez J., Crespo J.F., Izquierdo G., Vives R., Merchtn R.. Oral Allergy Syndrome Established by Double Blind, Placebo Controlled Food Challenge in a Series of Adult Patients From Madrid (Spain). J Allergy Clin Immunol 2002 Oct; 109 (1): 219.

Collins TF, Black TN, Brown LH, Bulhack P.. Study of teratogenic potential of FD & C Yellow Nº 5 when given by gavage to rats. Food Chem Toxicol 1990; 28 (12): 821-827.

Collins TF, Black TN, O'Donnell MW Jr, Bulhack P. Study of teratogenic potential of FD & C Yellow Nº 5 when given in drinking water. Food Chem Toxicol 1992; 30 (4): 263-268.

Collins-Williams C. Clinical spectrum of adverse reactions to tartrazine; J Asthma. 1985;22 (3): 139-143.

Corder E.H., Bucckley C.E.. Aspirin, salicylate, sulfite and tartrazine induced bronchoconstriction, safe doses and case definition in epidemiological studies; J Clin Epidemiol 1995; 48 (10): 1269-1275.

Devlin J., David T.J.. Tartrazine in atopic eczema. Archives of Disease in Childhood 1992; 67: 709-711.

Dipalma JR. Tartrazine sensitivity. Am Fam Physician 1990; 42(5): 1347-50.

Elhkim MO, Héraud F, Bemrah N, Gauchard F, Lorino T, Lambré C, Frémy JM, Poul JM. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. Regul Toxicol Pharmacol. 2007; 47(3):308-316.

Foods Standard Agency (FSA) - www.foodstandards.gov.uk
Fuglsang G, Madsen G, Halken S, Jørgensen S, Ostergaard PA, Osterballe O.. Adverse reactions to food additives in children with atopic symptoms. Allergy 1994; 49 (1): 31-37.

Gerber JG, Payne NA, Oelz O, Nies AS, Oates JA.. Tartrazine and the prostaglandin system. J Allergy Clin Immunol. 1979; 63 (4): 289-294.

Gleich, G., Averbek, A., and Swedlund, H.. Measurement of IgE in Normal and Allergic Serum by Radioimmunoassay. J. Lab. and Clin. Med. 1971; 77: 690-698.

Goldsby, R.A. et al. Kuby Immunology. 6ª edição, 2007, New York, W. H. Freeman and Company.

Grond K. IgE and the significance of the radio-allergo-sorbent-test (RAST). Hautarzt. 1976; 27 (9): 409-415.

Hamilton, R., "Radioimmunoassay in the Assessment of Allergic Disease" Ligand Quarterly 2 1979: 13-19.

Hariparsad D, Wilson N, Dixon C, Silverman M. Oral tartrazine challenge in childhood asthma: effects on bronchial reactivity. Clinical Allergy 1984; 4: 81-85.

Ishizaka, K., Ishizaka, T., and Hornbrook, M.M.. Physicochemical Properties of Human Reaginic Antibody IV. Presence of a unique Immunoglobulin as a Carrier of Reaginic Activity. J. Imm. 1966; 97: 75-85.

Janeway C. A., Travers P., Murphy K.; Walport, M. . Immunobiologia de Janeway. 7ª edição, 2007, Artmed

Johansson, S., Bennich, H., Berg, T., "The Clinical Significance of IgE" Progress in Clin. Immunology 1 (1972).

Kony S, Zureik M, Neukirch C et al. Rhinitis is associated with increased systolic blood pressure in men. A population-based study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 538-543.

Kurowski K, Boxer RW. Food allergies: detection and management. *Am Fam Physician* 2008; 77 (12): 1687-1688.

Lockey SD. Allergic reactions to FD and C Yellow no. 5 tartrazine, an aniline dye used as a coloring in various steroids. *Ann Allergy* 1959; 17: 719-721.

Maeda Y, Ono E, Fukutomi Y, Taniguchi M, Akiyama K. Correlations between alder specific IgE and alder-related tree pollen specific IgE by RAST method. *Allergol Int.* 2008; 57 (1): 79-81.

Mary E. Maccara. Tartrazine: a potentially hazardous dye in Canadian drugs. *CMA Journal* 1982; 126: 910-914.

McCann D., Barret A. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The Lancet* 2007; 370: 1560-1567.

Ministério Público Federal -
www.prsp.mpf.gov.br/atuacao/3oficio/2005.61.00.008841-8.pdf

Mochizuki H, Tadaki H, Takami S, Muramatsu R, Hagiwara S, Mizuno T, Arakawa H. Evaluation of out-in skin transparency using a colorimeter and food dye in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2009; 160(5): 972-979.

Morales C, Peñarrocha M, Bagán JV, Burchés E, Pelaez A. Immunological study of Melkersson-Rosenthal syndrome. Lack of response to food additive challenge. *Clin Exp Allergy.* 1995; 25 (3): 260-264.

Murdoch RD, Pollock I, Naeem S.. Tartrazine induced histamine release in vivo in normal subjects. *J R College Physicians Lond* 1987; 21 (4): 257-261.

Nettis E., Colanardi M.C., Ferrannini A., Tursi A.. Suspected tartrazine-induced acute urticaria/angioedema is only rarely reproducible by oral rechallenge. *Clin Exp Allergy* 2003 Dec; 33 (12):1725–1729.

Pollastrini MT, Barea M, Salas J. Genotoxic study of commercial dyes with tartrazine base on his-negative *Salmonella typhimurium* and trp-negative *Escherichia coli*. *Rev Sanid Hig Publica (Madri)* 1990; 64 (3-4): 203-209.

Pollock I., Warner JO. A follow-up study of food additive intolerance; *J R College Physicians Lond*; 1987, 21 (4): 248-50.

Safford RJ, Goodwin BF. Immunological studies on tartrazine and its matabolites. Animal studies. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1985; 77 (3): 331-336.

Sampson H.A.. Current reviews of allergy and clinical immunology. Food allergy. Part 2: Diagnosis and Management. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 103(6): 981-989.

Sánchez-Morillas L, Reaño Martos M, González Sánchez L, Iglesias Cadarso A, Rodríguez Mosquera M.. Angioedema hereditario de comienzo tardío. *An. Med. Interna* 2004 Feb; 21 (9): 84-86.

Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res.* 2002; 519(1-2): 103-19.

Simon RA. Adverse reactions to food additives. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2003 Jan; 3 (1): 62-66.

Spector SL, Wangaard CH, Farr RS.. Aspirin and concomitant idiosyncrasies in adult asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1979 Dec; 64 (6 Pt 1): 500-506.

Stevenson DD, Simon RA, Lumry WR, Mathison DA. Adverse reactions to tartrazine. *J Allergy Clin Immunol* 1986 Jul; 78 (7 Pt 2): 182-191.

Sung Pyo Hong, Hae Sim Park, Mi Kyung Lee, Chein-Soo Hong. Oral Provocation Tests with Aspirin and Food Additives in Asthmatic Patient. *Yonsei Medical Journal* 1989; 30 (4): 330-345.

Tarlo SM, Broder I. Tartrazine and benzoate oral challenge and dietary evidence in chronic asthma. *Clinical Allergy* 1982; 12: 303-312.

U. S. Food and Drug Administration, FDA Consumer, May 1994; Updated December 2004 - www.cfsan.fda.gov/dms/wh-alrg1.html

Vargaftig BB, Bessot JC, Pauli G. Is tartrazine-induced asthma related to inhibition of prostaglandin biosynthesis? *Respiration* 1980; 39 (5): 276-282.

Virchow C, Szczeklik A, Bianco S, Schmitz-Schumann M, Juhl E, Robuschi M, Damonte C, Menz G, Serwonska M.. Intolerance to tartrazine in aspirin-induced asthma: results of a multicenter study. *Respiration* 1988; 53 (1): 20-23.

Ward N. I. Assessment of chemical factors in relation to child hyperactivity. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine* 1997 Dec; 7(4): 333-342.

Ward N. I., et al. The Influence of the Chemical additive tartrazine on the zinc status of hyperactive children-A double -blind placebo-controlled study. *Journal Of Nutritional Medicine* 1990; 1 (1):51-57.

Warin R.P., Smith R.J.. Role of tartrazine in chronic urticaria. *British medical journal* 1982; 284 (15): 1443-1444.

Warrington RJ, Sauder PJ, McPhillips S. Cell-mediated immune responses to artificial food additives in chronic urticaria. *Clin Allergy.* 1986;16 (6):527-533.

Weber RW, Hoffman M, Raine DA Jr, Nelson HS. Incidence of bronchoconstriction due to aspirin, azo-dyes, non-azo-dyes, and preservatives in a population of perennial asthmatics. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 64 (1): 32-37.

Weliky N, Heiner DC, Tamura H, Anderson S, Stenius-Aarniala B, German DF, Hawley CD, Lockey SD Sr. Correlation of tartrazine hypersensitivity with specific serum IgD levels. *Immunol Commun.* 1979; 8 (1): 65-71.

Weltman JK, Frackelton AR Jr, Szaro RP, Rotman B. A galactosidase immunosorbent test for human immunoglobulin E. *J Allergy Clin Immunol* 1976; 58 (3): 426-431.

Weltman JK, Szaro RP, Settupane GA. An analysis of the role of IgE in intolerance to aspirin and tartrazine. *Allergy* 1978; 33(5): 273-81.

Wittig HJ, Belloit J, De Fillippi I, Royal G.. Age-Related Serum IgE Levels in Healthy Subjects and in Patients with Allergic Disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1980 Oct; 66 (4): 305-313.

Worm M., Vieth W., Ehlers I., Sterry W., Zuberbier T.. Increased leukotriene production by food additives in patients with atopic dermatitis and proven food intolerance. *Clinical and Experimental Allergy* 2001; 31: 265-273.

Y. Schoefer, T. Schafer, C. Meisinger, H.E. Wichmann, J. Heinrich, for the KORA study group. Predictivity of allergic sensitization (RAST) for the onset of allergic diseases in adults. *Allergy* 2008; 63: 81–86.

Yongchao Guo, Zhenxing Li, Hong Lin, Haider Samee, Jamil Khalid. Studies on the Specific Degranulation of Mast Cell Sensitized by Several Allergens in vitro. *Cellular & Molecular Immunology* 2009 Apr; 6(2):149-153.

ANEXO I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Universidade Federal Fluminense
Hospital Universitário Antônio Pedro
Centro de Pesquisa Clínica

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Adesão de Voluntários
PROJETO TARTRAZINA
Corante Amarelo

EU, _____, abaixo identificado e firmado, declaro ter sido informado claramente sobre o estudo do “Corante Amarelo (Tartrazina) e concordo em participar como voluntário ainda que o mesmo esteja em caráter experimental em conjunto com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e a UFF (Universidade Federal Fluminense), conforme explicações verbais e escritas do Dr. Luiz Querino de Araújo Caldas. Compreendo que minha recusa em participar ou retirada posterior do estudo não trará prejuízos de qualquer natureza, mas que para dar sequência aos ensaios clínicos (sem qualquer ônus) devo participar por 2 (dois) ou 3 (três) dias para que o estudo possa ser finalizado a contento.

Niterói, ____ de _____ 200__

Voluntário (a)

Médico

“Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte”

M827 Moraes, Letícia Soares Tavares

**Avaliação clínico-laboratorial do uso da tartrazina em
pacientes atópicos: amostra ampliada / Letícia Moraes Soares
Tavares. – Niterói: [s.n.], 2010.**

100f., 30 cm.

**Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Universidade
Federal Fluminense, 2010.**

**1. Hipersensibilidade. 2. Corante de Alimentos. 3.
Tartrazina. 4. Dermatite Atópica. 5. Imunoglobulina E. 6.
Vasculite. I. Título.**

CDD 616.97

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](#)