

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**EXPOSIÇÃO A ALÉRGENOS INALÁVEIS EM AUTOMÓVEIS DA CIDADE
DE UBERLÂNDIA – MG.**

CAROLINE MORAIS JUSTINO

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG

Junho – 2001

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**EXPOSIÇÃO A ALÉRGENOS INALÁVEIS EM AUTOMÓVEIS DA CIDADE
DE UBERLÂNDIA – MG.**

CAROLINE MORAIS JUSTINO

ORIENTADOR: Prof. Dr. ERNESTO AKIO TAKETOMI

CO-ORIENTADORA Prof(a). Ms. MONICA C. SOPELETE

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG

Junho – 2001

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

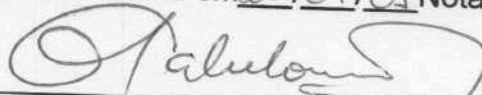
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

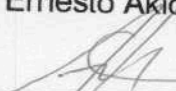
EXPOSIÇÃO A ALÉRGENOS INALÁVEIS EM AUTOMÓVEIS DA CIDADE
DE UBERLÂNDIA – MG.

CAROLINE MORAIS JUSTINO

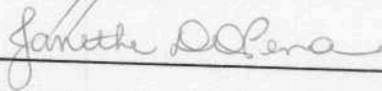
Aprovado pela Banca Examinadora em 29/07/01 Nota 100,0



Prof. Dr. Ernesto Akio Taketomi



Prof. Dr. Rodolfo Pereira Mendes



Prof(a). Janethe Deolina de Oliveira Pena


Universidade Federal de Uberlândia
Prof.ª Dra. Ana Angélica Rúnica Barbasz
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Uberlândia, 29 de 07 de 2001.

Aos meus pais e irmã:

Obrigado por fazerem seus os meus sonhos, pelo apoio incondicional, pelo incentivo, pela alegria nas minhas conquistas. Obrigado por fazerem seus os meus momentos difíceis, por enxugarem minhas lágrimas e confortarem meu coração, por estarem sempre presentes. Obrigado por fazerem suas as minhas renúncias, pela compreensão nas ausências quando era essencial minha presença. Obrigado por fazerem sua esta conquista e lhe darem um sentido muito maior.

AGRADECIMENTOS:

À todos os amigos e aqueles que contribuíram direta ou indiretamente à realização deste, em especial ao Prof. Dr. Ernesto Akio Taketomi por sua orientação e à Prof. Ms. Mônica Camargo Sopelete pela disponibilidade e imenso auxílio.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a exposição alergênica em automóveis frente aos alérgenos de ácaros (Der p 1 e Der f 1), cão (Can f 1) e gato (Fel d 1), utilizando-se o teste ELISA. Os condutores foram questionados quanto: a ocupação média de pessoas no veículo e a posse e transporte de animais domésticos (cães e gatos) pela família proprietária do automóvel. Dentre as amostras analisadas 2 apresentaram níveis suficientes para sensibilização a antígenos de ácaros, 32 fatores de risco para sensibilização a Can f 1 ($\geq 1\mu\text{g/g}$) e 12 a Fel d 1. Dos carros analisados que não possuíam animais 6 apresentaram níveis significativos de alérgenos de animais. Com base nos dados obtidos observou-se diferença estatisticamente significativa entre as médias de Can f 1 e Fel d 1 e também entre possuir e/ou transportar cães, mas não quanto a possuir e/ou transportar gatos. Concluiu-se que existe uma tendência a carros mais velhos apresentarem maiores níveis de alérgenos e que há uma forte associação entre a presença, transporte do cão e elevados níveis de alérgenos nos automóveis.

PALAVRAS-CHAVE: Exposição alergênica, alérgenos inaláveis, automóveis

ÍNDICE

1) INTRODUÇÃO	01
2) OBJETIVO.....	08
3) MATERIAIS E MÉTODOS.....	09
3.1) Coleta da poeira e extração dos alérgenos.....	09
3.2) ELISA (<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i>) para detccção de alérgenos Der p 1, Der f 1, Can f 1 e Fel d 1.....	10
4) RESULTADOS.....	13
5) DISCUSSÃO.....	23
6) CONCLUSÕES.....	28
7) REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA.....	30
8) ANEXOS.....	37
8.1) Anexo 1.....	38
8.2) Anexo 2.....	39
8.3) Anexo3.....	40

1) INTRODUÇÃO

Asma, rinite, dermatite, urticária e anafilaxia são algumas doenças que podem originar-se de processos alérgicos (HOWARTH, 1998) e que descrevem um quadro de atopia, um termo criado por Coca e Coke em 1923 para agrupar pacientes com antecedentes familiares de alergia, testes cutâneos positivos para inalantes e alimentos e que apresentavam em comum, um mecanismo fisiopatológico envolvendo reações de hipersensibilidade imediata (RIOS, 1990).

A alergia é um estado de hipersensibilidade mediada imunologicamente que resulta da exposição a um alérgeno, substâncias biológicas ou químicas que causam reações alérgicas (SPORIK *et al.*, 1990), podendo ser também definida como uma resposta imune adaptativa que ocorre de forma exagerada ou inapropriada (ROITT *et al.*, 1998).

As moléculas que geram respostas imunes são chamadas imunógenos (ABBAS *et al.*, 2000). Podem ser derivados de produtos de animais (cães, gatos, etc.), produtos de artrópodes (baratas, abelhas, ácaros, etc.) ou ainda decorrentes de infecções virais, fatores fisiológicos, atmosféricos, de inalantes experimentais ou da ingestão de drogas (SOPELETE, 2000).

Os alérgenos normalmente encontrados na natureza são constituídos predominantemente de proteínas ou compostos químicos de baixo peso molecular (haptenos) ligados à proteínas, que lhes tornam imunogênicos (BENJAMINI & LESKOWITZ, 1988).

Os aeroalérgenos, em sua grande maioria, apresentam diâmetro entre 2 e 60 μm , são proteínas solúveis em água, com baixo peso molecular (5-50kDa) ou glicoproteínas que rapidamente penetram através das membranas das mucosas, desencadeando sintomas em pacientes alérgicos, estimulando a produção de anticorpos IgE (KALINER & LEMANSKE, 1992).

A natureza do antígeno influi na resposta alérgica assim como fatores como a hereditariedade e o nível de exposição ao alérgeno, além das células T auxiliares.

Em casais alérgicos há uma probabilidade superior a 50% de as crianças apresentarem alergia. Mesmo quando um dos pais é alérgico, a probabilidade é de quase 30% de os descendentes apresentarem alergia. Os mecanismos genéticos regulam: 1) os níveis totais de Imunoglobulina do tipo E (IgE) pelo grupamento gênico da citocina IL-4 e/ou um outro gene nesta região; 2) as respostas alérgeno-específicas, uma vez que, os genes que controlam a resposta IgE-específica estão ligados ao HLA, Human Leucocyte Antigens (antígeno leucocitário humano); e 3) a hiperresponsividade geral e específica que também está ligada ao HLA (HLAB8 e HLADW3) (ROITT *et al.*, 1998).

Concomitantemente a constituição genética dos indivíduos predispostos a desenvolverem alergia, outro fator fundamental ao desenvolvimento da mesma é a exposição alérgica.

A exposição precoce aos ácaros domésticos, alérgenos de animais e fungos, entre outros, em quantidades elevadas, é considerada crucial para a sensibilização. Ao contrário, a interrupção do processo de sensibilização primária a agentes inaláveis pode protelar ou prevenir o aparecimento de doenças alérgicas (PRESCOTT *et al.*, 1999).

Considerou-se, no 2º encontro internacional de ácaros de poeira e asma, realizado na Inglaterra em 1990, que exposições a níveis maiores ou iguais a 2 μg de alérgenos de ácaros dos grupos 1 e 2 por g de poeira seria fator de risco para sensibilização e hiperreatividade brônquica, enquanto que exposição a níveis maiores ou iguais a 10 $\mu\text{g/g}$ de poeira destes alérgenos seria fator de risco para o aparecimento de crise aguda de asma (PLATTS-MILLS *et al.*, 1992), o que

demonstra ser o nível de exposição um fator determinante para o desencadeamento da asma ou qualquer outro tipo de reação alérgica. Em um 3º encontro, em 1997, o fator de risco para sensibilização de 2µg/g de poeira foi confirmado, mas não o de 10µg/g como um fator para a exacerbação dos sintomas (PLATTS-MILLS *et al.*, 1997).

As células T auxiliadoras (th) e suas citocinas também contribuem para a regulação da síntese de IgE específica. Em locais de reações de hipersensibilidade imediata na pele e mucosa brônquica têm sido demonstrados acúmulos de linfócitos T auxiliares da população Th2 e produção predominante de citocinas IL-4 e IL-5, importantes respectivamente, entre outros fatores, para a mudança de isótipo ("switch") para IgE e maturação, recrutamento e ativação de eosinófilos. A ativação das células Th1 ou Th2 em resposta a antígenos protéicos induz a distintas classes de reações imunes (ABBAS *et al.*, 2000).

A alergia ocorre quando uma resposta por IgE é dirigida contra antígenos inócuos imediatamente ou em até 24 horas após o contato com o alérgeno, ou ainda quando há inalação repetida de material antigênico levando à formação de complexos imunes nas superfícies dos alvéolos pulmonares (ROITT *et al.*, 1998).

A resposta por IgE é um evento local, que ocorre no sítio de entrada do alérgeno no organismo. O anticorpo unido a receptores específicos FcRε1, receptores de alta afinidade para a porção Fc de IgE, em basófilos ou mastócitos desencadeia a liberação de mediadores químicos da célula, resultando em resposta anafilática local ou sistêmica. Atualmente, sabe-se que este tipo de reação pode manifestar-se rapidamente ou após algumas horas. Já a reação tardia é desencadeada por linfócitos T sensibilizados em contato prévio com o antígeno, liberando linfocinas que atuam principalmente sobre macrófagos e outros tipos celulares ocasionando destruição antigênica (WANDALSEN, 1990).

A sensibilização a um determinado alérgeno ambiental é o resultado de uma complexa inter-relação das propriedades físicas e químicas de um dado alérgeno, do modo e quantidade de exposição, dos fatores ambientais, bem como dos fatores

genéticos próprios do indivíduo exposto. A intensidade da exposição e a inalação contínua (mesmo em pequenas quantidades) favorecem a sensibilização (TERR, 1997; SOUZA, 1998).

Os antígenos inaláveis são os mais importantes agentes etiológicos da atopia e destes destacam-se os ácaros da poeira domiciliar e os epitélios de animais.

A poeira doméstica é formada por vários compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo fibras, esporos de fungos, pólenes, insetos, descamação de pele animal, fezes de insetos, ácaros e fezes de ácaros (VOORHORST *et al.*, 1969).

Os ácaros da poeira domiciliar, provavelmente os alérgenos sensibilizantes mais comuns (DUFF & PLATTS-MILLS, 1992), têm sido citados como um dos agentes que provocam problemas alérgo-respiratórios, devido a existência de alérgenos nas fezes e tegumentos destes organismos (ALBUQUERQUE *et al.*, 1998).

As duas espécies de ácaros mais prevalentes e que serão o foco deste trabalho, apresentam a seguinte classificação taxonômica, resumida, segundo BARNES & RUPPERT (1996), com modificações: Reino Metazoa, Filo Artropode, Classe Arachnida, Ordem Acarina, Família Pyroglyphidae (Cynliffe, 1958), Gênero Dermathophagoides (Bogdanov, 1864), Espécies *D. pteronyssinus* (Trouessart, 1887) e *D. farinae* (Hughes, 1961), sendo o primeiro mundialmente predominante na poeira, medindo aproximadamente 0,3mm, fotofóbicos, suscetíveis a dissecação, residindo em "ninhos" nos tapetes, camas, sofás, almofadas, estofados, colchões, etc., alimentando-se de escamas e fungos da pele humana, e os determinantes primários de seu crescimento e sobrevivência estão relacionados a alimentação, a temperatura média de 24°C e a umidade relativa do ar de 60% (SMITH *et al.*, 1981).

Os alérgenos são nomeados de acordo com um guia publicado em 1994 pela "World Health Organization/International Union of Immunologic Sciences/Allergen Nomenclature Sub-Committee" da seguinte forma: o nome incorpora as três primeiras letras do gênero e a primeira letra (ou as duas primeiras, para evitar ambigüidade) da espécie a partir da qual o alérgeno é derivado, mais um numeral arábico (o qual pode ser usado para denotar alérgenos homólogos estruturalmente,

porém de espécies diferentes). Por exemplo, alérgenos estruturalmente similares (*Dermatophagoides pteronyssinus* e *D. farinae*) são designados Der p 1 e Der f 1, respectivamente (KING *et al.*, 1995).

Há dois grandes grupos de alérgenos na ácarofauna de poeira, grupo I (Der p 1 e Der f 1) e grupo II (Der p 2 e Der f 2). Em regiões tropicais e subtropicais os alérgenos produzidos por outra espécie de ácaro, *Blomia tropicalis*, são uma importante causa de sensibilização IgE em asmáticos (FERNANDEZ-CALDAS *et al.*, 1993; TSAI *et al.*, 1998).

Estudos realizados no Brasil têm mostrado que *D. pteronyssinus* (Dpt) e *B. tropicalis* são as espécies de ácaros mais prevalentes enquanto que *D. farinae* (Df) é raramente encontrado (ARRUDA *et al.*, 1991; GELLER *et al.*, 1995). Contudo, estudos realizados em Campo Grande, MS, mostrou uma maior frequência de Der f sobre Der p e *B. tropicalis* (DECANINEL & PERRELI, 1998), e outros realizados em Uberlândia, MG, também verificaram a predominância de Df sobre Dpt., o que leva a indicação de que há diferenças quanto à prevalecência de um determinado ácaro em diferentes regiões de acordo com o clima, as estações, temperatura e umidade do ar, entre outros fatores (SOPELETE *et al.*, 2000).

Além dos ácaros temos os alérgenos dos animais criados no interior das casas como gatos e cães, os principais são Fel d 1, de *Felis domesticus* e Can f 1 de *Canis familiares*. Mais de 60% dos pacientes asmáticos demonstraram hipersensibilidade aos alérgenos do gato e/ou cães, e mais de um terço destes conviviam com estes animais em seus lares (EGMAR *et al.*, 1993).

Nos gatos o alérgeno Fel d 1 provem dos folículos pilosos intradérmicos uma concentração elevada destes alérgenos é encontrada nas glândulas salivares (ANDERSON & BAER, 1981; LEITERMANN & OHMAN, 1984), na urina de machos e nas secreções anais (DORNELAS *et al.*, 1996). A descamação de sua pele elimina partículas de 2 a 5 µm de diâmetro que contêm o alérgeno Fel d 1, o qual permanece longo período em suspensão, principalmente em ambientes mal ventilados (HOOVER & PLATTS-MILLS, 1995), mantendo potência alergênica por mais de 20 semanas, mesmo após a remoção do animal (WOOD *et al.*, 1989). Em

ambientes co-habitados com gatos, os níveis de Fel d 1 alcançam 10 µg/g de poeira (CHAPMAN *et al.*, 1988).

Os cães, por ficarem mais tempo fora de casa que os gatos, causam menos fenômenos alérgicos, sendo que o seu alérgeno mais comum, encontrado em sua saliva e pele, é o Can f 1. Deve ser ressaltado que os alérgenos de cães e gatos podem ser encontrados em 25% dos ambientes onde habitualmente não estão presentes estes animais (CUSTOVIC *et al.*, 1998) e ainda, que estes agentes alergênicos podem ser detectados em lugares públicos, incluindo escolas (OUSYANNIDOVA *et al.*, 1994) e meios de transportes (CUSTOVIC *et al.*, 1994; CUSTOVIC *et al.*, 1996).

Na sociedade moderna, ocorre uma grande concentração habitacional nas metrópoles, com predomínio do estilo de vida sedentário e de confinamento, gastando-se maior parte do tempo (90%) no ambiente interior das moradias, do trabalho ou no lazer, e 5% adicionais em transporte (POPE *et al.*, 1993). Este fato contribuiu para o aumento da prevalência da asma alérgica (atópica), devido ao contato mais prolongado com os chamados alérgenos domésticos, desencadeando o que hoje chamamos de asma perene.

Entretanto, estudos realizados na Escandinávia e Finlândia indicam que os níveis de alérgenos de poeira encontrados em veículos de transporte público (ônibus, trens e metrô) são baixos e insuficientes para causar a manifestação de sintomas alérgicos nos passageiros, embora muitos afirmem ter apresentado sintomas de alergia respiratória quando nestes veículos (PARTTI-PELLINEN *et al.*, 2000).

Variantes como a ventilação e a atividade humana ou animal no ambiente também podem contribuir para uma maior ou menor exposição (SAKAGUCHI *et al.*, 1993).

Quantidades significativas de antígenos de cães e gatos foram encontradas em amostras de poeira domiciliar de residências onde nunca habitaram esses animais, sendo este fato atribuído ao transporte, tanto pelo ar, como pelas roupas e calçados das pessoas que freqüentavam aquelas moradias. Assim, alergia a

epitélios de cães e/ou gatos pode ocorrer sem exposição direta a esses animais (LOWENSTEIN *et al.*, 1997).

A quantificação da exposição alergênica: 1) esclarece o papel da exposição alergênica na hiperreatividade brônquica não –específica; 2) possivelmente, identifica aqueles casos particulares em que a redução da exposição poderia ser o tratamento primário para a asma; e 3) ajuda a identificar, por exclusão, os casos de asma intrínseca ou não alérgica (PLATTS-MILLS *et al.*, 1993).

A realização do presente trabalho justifica-se pelo fato de que o transporte de alérgenos pode ocorrer através das roupas de pessoas que entraram em contato com estes ou mesmo através da ventilação, o que leva à suposição de que quantidades significativas de alérgenos de poeira (incluindo alérgenos de ácaros e de animais domésticos como cães e gatos), estejam presentes em veículos de transporte nos quais passamos parte do tempo, podendo ou não causar a sensibilização dos indivíduos que constantemente se locomovem através de seus automóveis.

2) OBJETIVO

Avaliar a exposição alergênica frente a alérgenos inaláveis da poeira de automóveis, tais como os dos ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae* e antígenos de cão (*Canis familiares*) e gato (*Felis domesticus*).

3) MATERIAIS E MÉTODOS

3.1) Coleta da poeira e extração dos alérgenos

Foram coletadas amostras de poeiras do estofamento (bancos) de 60 automóveis, escolhidos ao acaso, sendo 20 de automóveis cujos proprietários não possuíam animais domésticos em suas residências, 19 que possuíam somente cães, 11 que possuíam pelo menos um gato e 10 que possuíam cão e gato.

A coleta foi realizada, após concordância e assinatura pelo condutor do termo de consentimento (ANEXO 1). Em seguida o condutor respondeu a um questionário informando a identificação do veículo, a existência de alergia respiratória entre os ocupantes do automóvel, a propriedade e transporte de animais nos mesmos (ANEXO 2).

A poeira foi coletada com auxílio de um aspirador portátil compacto para carro (Car Vac Plus, Black e Decker), adaptando-se a este um filtro de papel para retenção da poeira. O filtro após ser retirado foi dobrado adequadamente e acondicionado em embalagem plástica, devidamente identificada com a placa do veículo e estocada a 4°C para posterior extração dos alérgenos.

As amostras de poeira foram peneiradas através de uma malha especial (Standard Sieve Series A.S.T.M, E.U.A) com poros de 0,3mm, em placa de petri, sendo em seguida transferidas para tubos de ensaio. Posteriormente, as frações alergênicas foram extraídas de 100 mg de poeira de cada amostra com 2 ml de solução salina tamponada com borato (BBS), a 5 mM, pH 8,0 a 4°C por 18 horas.

Subseqüentemente, as amostras foram centrifugadas a 350g por 10 minutos e o sobrenadante estocado a -20°C para posterior análise do conteúdo alergênico.

3.2) ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*) para detecção de alérgenos Der p 1, Der f 1, Can f 1 e Fel d 1:

Alérgenos de *Dermatophagoides* (Der p 1 e Der f 1), cão (Can f 1) e gato (Fel d 1) foram mensurados através de ensaio imunoenzimático (ELISA) tipo "sandwich", como descrito por LUCZYNSKA *et al.* (1989) com modificações.

Microplacas de poliestireno (Coorning) foram sensibilizadas (50 μl /poço) com os respectivos anticorpos monoclonais: anti-Der p 1(clone 5H8), anti-Der f 1(clone 6A8), anti-Fel d 1(clone 6F9), anti-Can f 1(clone 6E9F9), na concentração de 10 μg /ml em tampão carbonato-bicarbonato a 0,06M, pH 9,6. As placas foram incubadas por 18 horas a 4°C em câmara úmida.

Em seguida, as placas foram lavadas por três vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS), a 0,01M, pH 7,2, contendo 0,05% Tween 20 (PBS-T, Polyoxyethylene-sorbitan monolaurate, SIGMA, p-1379) e subseqüentemente bloqueadas (100 μl /poço) com PBS-T mais soro albumina bovina (BSA, SIGMA, A-8022) a 1% por uma hora à temperatura ambiente.

Novamente as placas foram submetidas a três ciclos de lavagens com PBS-T, seguindo-se a adição dos extratos de poeira dos diferentes automóveis (50 μl /poço), em duas concentrações (não diluída e 1:5 em PBS-T + BSA a 1%). Paralelamente, foram realizadas em duplicata, as respectivas curvas padrões, em diluições duplas seriadas em PBS-T + BSA a 1%, iniciando em 250 ng/ml para Der p 1 e Der f 1, 1000 U.I/ml para Can f 1 e 80 ng/ml para Fel d 1, utilizando para cada alérgeno as seguintes amostras de referência: Der p 1(UVA 93/02), Der f 1(UVA 93/03), Fel d 1(UVA 94/01) e Can f 1(UVA 94/02), gentilmente cedidos pelo Dr. Chapman da Universidade de Virgínia, E.U.A.

Após incubação por 1 hora à temperatura ambiente, as placas foram novamente lavadas por cinco vezes com PBS-T, seguindo-se a adição (50 µl/poço) dos anticorpos monoclonais biotinilados: anti-Der p 1 e anti-Der f 1(4C1 a 1:1000), anti-Fel d 1(3F4C4 a 1:1000) e anti-Can f 1(soro policlonal de coelho anti-Can f 1 a 1:500) todos diluídos em PBS-T + BSA 1%. As microplacas foram incubadas por 1 hora à temperatura ambiente.

As microplacas foram submetidas a novas lavagens como descrito anteriormente e adicionou-se (50 µl/poço) de: (1) estreptavidina peroxidase (Pierce Rockford, Illinois, E.U.A.) a 1:1000 em PBS-T + BSA a 1%, nas placas para detecção de antígenos de ácaros e de gato, incubando-se as mesmas por 30 minutos à temperatura ambiente e (2) anti-IgG de camundongo produzida em coelho marcada com peroxidase (preparada neste laboratório segundo Nakane e Kawaoi, 1978) a 1:250 em PBS-T + BSA 1% na placa para detecção de antígeno de cão posteriormente incubada por 30 minutos à 37°C.

Após a última lavagem das placas com PBS-T por cinco vezes, adicionou-se o substrato enzimático consistindo de solução de ABTS (*2,2'-azinobis-3-ethylbenzthia zoline sulfonic acid*, SIGMA, A1888) a 0,01M em tampão citrato-fosfato 0,07M, pH 4,2 contendo 0,03% de água oxigenada.

A leitura foi realizada em leitor de microplacas ELISA (Titertek Multiskan Plus, Flow Laboratories, EUA) a 405nm, em tempos variáveis tendo como referência os valores de absorbância da curva padrão.

A média dos valores de absorbância obtidos dos extratos das amostras de poeira foi convertida em ng/ml segundo a curva padrão para cada alérgeno, utilizando-se do software Microplate Manager 4.0 (Bio-Rad Laboratories, Inc.) e posteriormente expressa em µg/g de poeira. Os extratos que apresentaram valores de absorbância extrapolados acima da curva padrão dos respectivos alérgenos foram novamente testados em diluições maiores.

Realizou-se, ainda, a análise estatística dos dados obtidos utilizando-se o software Graph Pad Prism versão 3.0 (Graph Pad Software, Inc.). Os dados foram

log-transformados por não apresentarem distribuição normal. Para comparação entre as médias geométricas dos níveis dos alérgenos foi empregado o teste "t" de Student, sendo os resultados considerados significativos a um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4) RESULTADOS

Ensaio imunoenzimático (ELISA) foram utilizados para detecção dos níveis de alérgenos de ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p 1 e *Dermatophagoides farinae*, Der f 1) e de animais domésticos (*Canis familiaris*, Can f 1 e *Felis domesticus*, Fel d 1) em amostras de poeira coletadas no estofado (bancos) de automóveis. O limite de sensibilidade das curvas padrões de ELISA para detecção dos alérgenos Der p 1 e Der f 1 para ambos foi de 0,04 µg/g, de 0,08 µg/g para o alérgeno Can f 1 e de 0,01 µg/g de poeira para Fel d 1.

Os níveis dos alérgenos determinados nas amostras de poeira dos 60 automóveis analisados variaram de 0,06 µg/g a 2,05 µg/g para Der p 1, de 0,06 µg/g a 2,07 µg/g para Der f 1, de 0,14 a 30,96 µg/g para Can f 1 e de 0,02 a 5,75 µg/g de poeira para Fel d 1.

As médias geométricas dos níveis dos alérgenos Der p 1, Der f 1, Can f 1 e Fel d 1 foram respectivamente 0,24 µg/g, 0,29 µg/g, 1,51 µg/g e 0,42 µg/g de poeira. Quanto as médias geométricas dos alérgenos Der p 1 e Der f 1 não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$), entretanto, diferenças estatisticamente significativas foram observadas entre as médias geométricas dos alérgenos Can f 1 e Fel d 1 ($p < 0,001$) (Figura 1).

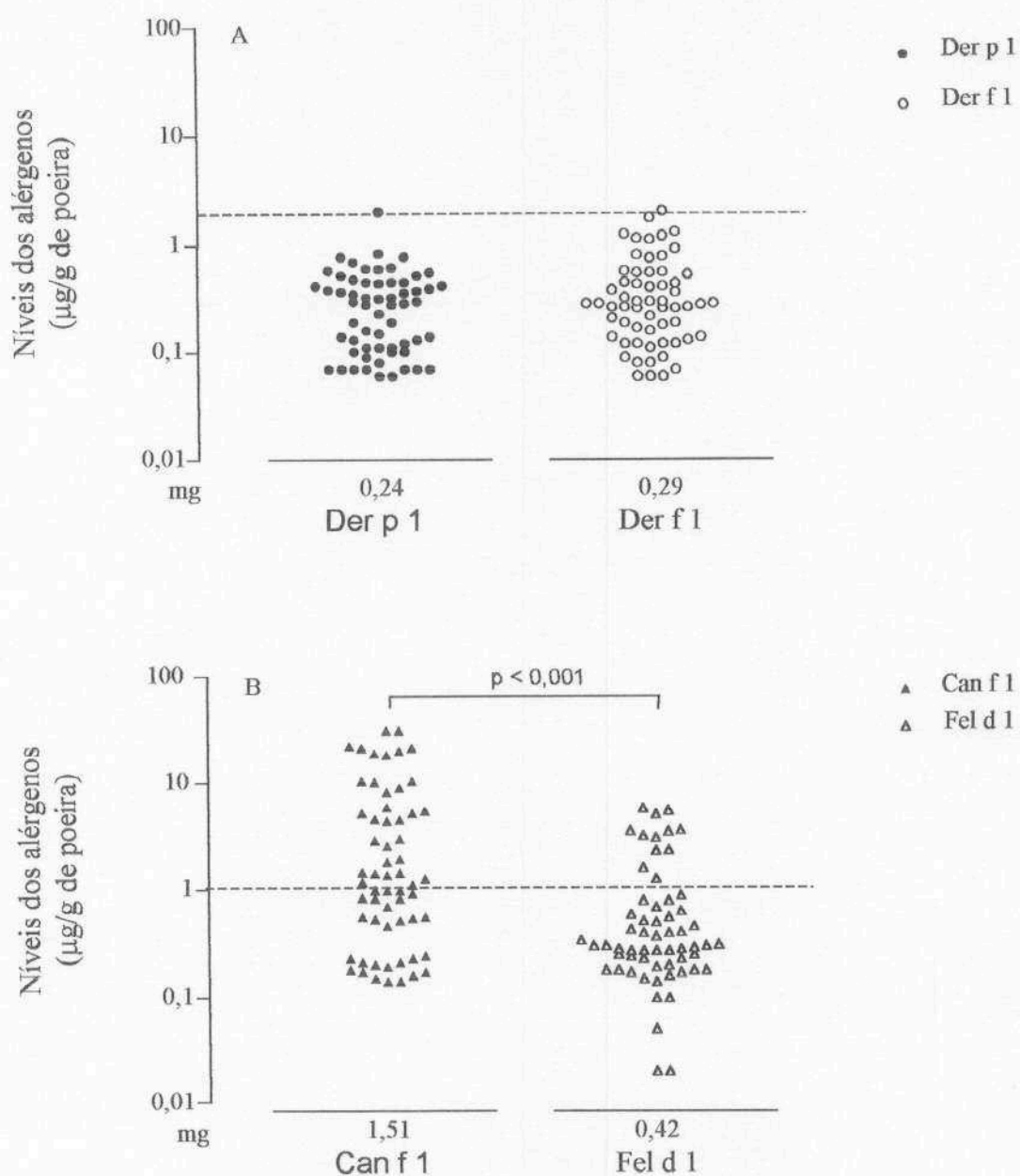


Figura 1. Níveis dos alérgenos de ácaros (A: *Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p 1; *Dermatophagoides farinae*, Der f 1) e de animais (B: *Canis familiaris*, Can f 1; *Felis domesticus*, Fel d 1) expressos em µg/g de poeira, em amostras de poeira coletadas de 60 automóveis. As linhas tracejadas indicam o fator de risco para sensibilização (≥ 2 µg/g de poeira para alérgenos de ácaros e ≥ 1 µg/g de poeira para alérgenos de animais). mg = média geométrica.

Níveis $\geq 2 \mu\text{g/g}$ de poeira foi encontrado em apenas 1 (1,65%) amostra para Der p 1 (2,05 $\mu\text{g/g}$ de poeira) e para o alérgeno Der f 1 (2,07 $\mu\text{g/g}$ de poeira). Entretanto, níveis de Der p 1 e Der f 1 $\geq 10 \mu\text{g/g}$ de poeira não foram encontrados nas amostras de poeira analisadas.

Com relação aos alérgenos de animais, níveis $\geq 1 \mu\text{g}$ de alérgeno/g de poeira de Can f 1 foram detectados em 21 (35%) amostras, enquanto que para o alérgeno Feld 1 somente 12 (20%) amostras estiveram acima deste valor. Foram detectados 11 (18,3%) amostras com níveis $\geq 10 \mu\text{g/g}$ de Can f 1/g de poeira, sendo que para Fel d 1 nenhuma (0%) amostra foi superior a 8 $\mu\text{g/g}$ de poeira.

Na Figura 2 estão representados os níveis de alérgenos de ácaros e de animais em relação ao tempo de uso dos automóveis. Os maiores valores de médias geométrica dos alérgenos de Der p 1 e Der f 1 foram encontrados, respectivamente nos automóveis com tempo de uso > 10 anos (0,27 $\mu\text{g/g}$ de poeira) e < 1 ano (0,42 $\mu\text{g/g}$ de poeira), valores que comparados com outros tempos de uso não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$).

Quanto aos alérgenos de animais, diferenças estatisticamente significativas foram detectadas entre as médias geométricas dos alérgenos Can f 1 e Fel d 1 em automóveis com idades entre 2 e 5 anos (1,92 $\mu\text{g/g}$ e 0,41 $\mu\text{g/g}$ de poeira; $p = 0,0096$), 6 e 10 anos (0,80 $\mu\text{g/g}$ e 0,28 $\mu\text{g/g}$ de poeira; $p = 0,0124$) e mais de 10 anos de uso (2,74 $\mu\text{g/g}$ e 0,60 $\mu\text{g/g}$ de poeira; $p = 0,0206$), respectivamente, não sendo encontradas diferenças significativas entre os mesmos alérgenos quando comparados em diversos tempos de uso dos automóveis ($p > 0,05$).

Com relação ao número médio de ocupantes do veículo (Figura 3), quanto aos alérgenos Der p 1 e Der f 1, os maiores valores médios foram detectados nos automóveis que transportavam 3 ou mais membros da família (0,25 $\mu\text{g/g}$ e 0,31 $\mu\text{g/g}$ de poeira, respectivamente) valores não significativamente diferentes quanto aos que transportavam 1 a 2 ocupantes ($p > 0,05$). Nos automóveis que transportavam um ou dois ocupantes, as médias geométricas dos alérgenos Can f 1 (1,32 $\mu\text{g/g}$ de poeira) e Fel d 1 (0,5 $\mu\text{g/g}$ de poeira) foram estatisticamente diferentes ($p = 0,0404$),

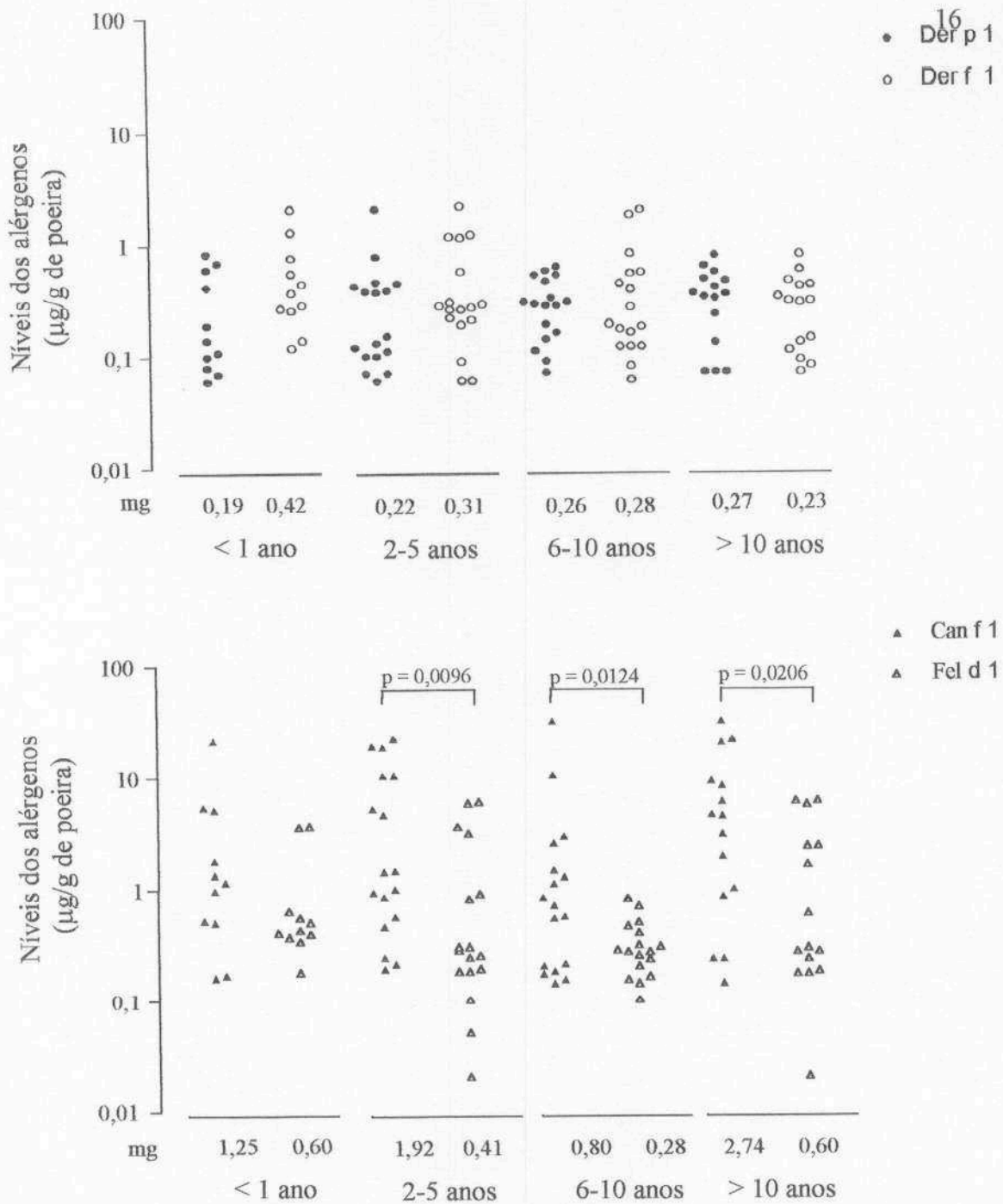


Figura 2. Níveis dos alérgenos de ácaros (A: *Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p 1; *Dermatophagoides farinae*, Der f 1) e de animais (B: *Canis familiaris*, Can f 1; *Felis domesticus*, Fel d 1) expressos em µg/g de poeira, em amostras de poeira coletadas de 60 automóveis com diferentes tempo de uso (anos). mg = média geométrica.

assim como nos automóveis que transportavam 3 ou mais ocupantes ($1,64 \mu\text{g}$ de Can f 1 /g de poeira e $0,40 \mu\text{g}$ de Fel d 1 /g de poeira; $p < 0,001$), entretanto não houve diferença significativa entre os mesmos alérgenos quando comparados com diferente número de ocupantes.

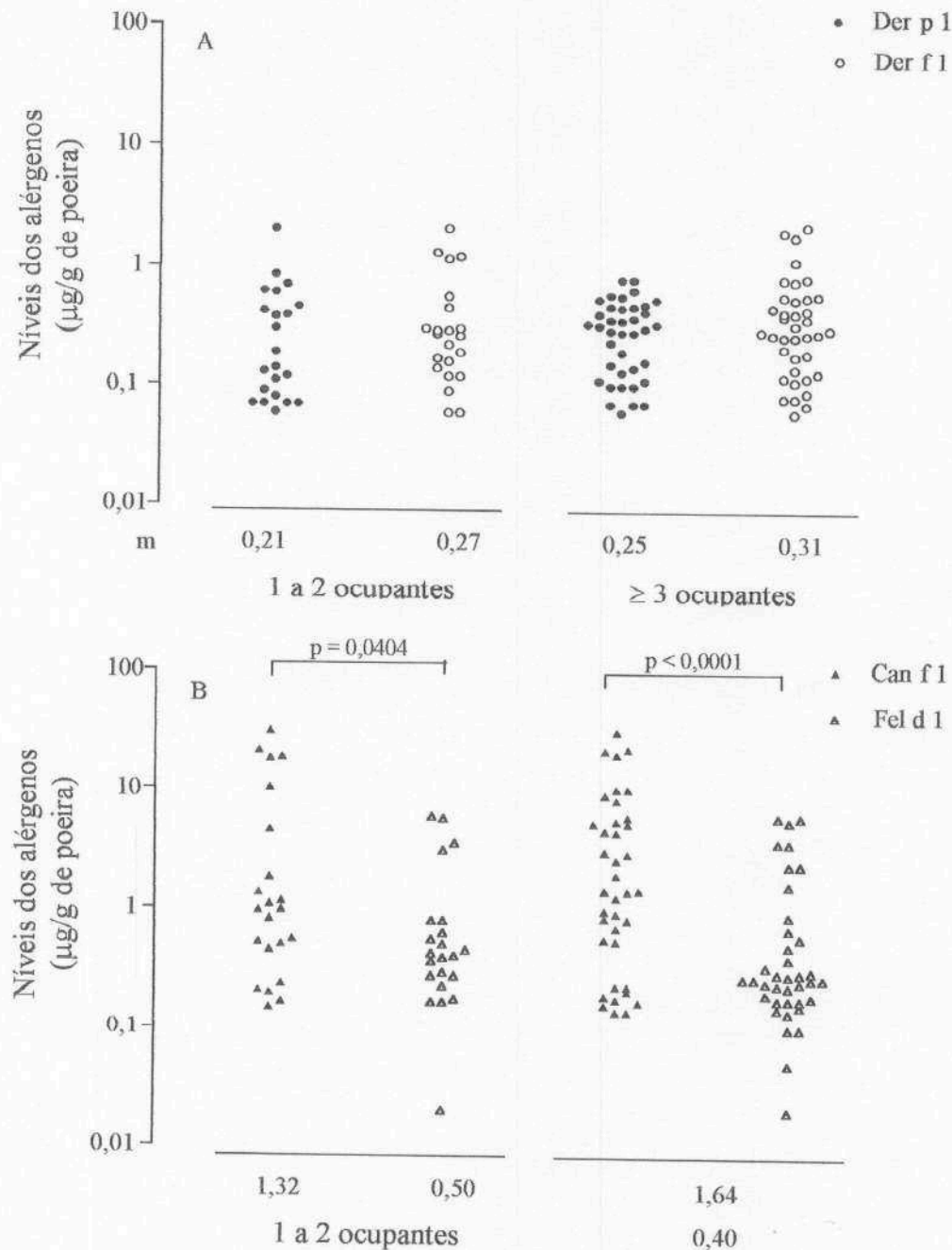


Figura 3. Níveis dos alérgenos de ácaros (A: *Dermatophagoides pteronyssinus*, Der p 1; *Dermatophagoides farinae*, Der f 1) e de animais (B: *Canis familiaris*, Can f 1; *Felis domesticus*, Fel d 1) expressos em μg/g de poeira, em amostras de poeira coletadas de 60 automóveis considerando o número médio de ocupantes do veículo. mg = média geométrica.

Na Figura 4, observa-se os níveis dos alérgenos de ácaros quanto a presença ou ausência de animais domésticos (cão e gato) nas residências dos proprietários ou condutores dos automóveis.

Verifica-se que em casas com presença do cão os níveis de Can f 1 detectados no veículos foram superiores em relação aqueles dos veículos de proprietários que não possuíam animais. Diferenças estatisticamente significativas foram encontradas entre os alérgenos Can f 1 e Fel d 1 quando na presença do cão (mg = 3,27; 0,32 e p = 0,0001), entre alérgenos Can f 1 quando na presença do cão e ausência de animais (mg = 3,27; 0,57 e p = 0,008), entre Can f 1 quando na presença do cão e também do gato e ausência de animais (mg = 3,44; 0,57 e p < 0,0001) e ainda entre Can f 1 quando na presença de ambos animais e presença apenas do gato (mg = 3,44;0,89 e p = 0,0212) .

Das 19 (31,7%) amostras com presença do cão na residência, 13 (68,4%) apresentaram níveis de Can f 1 \geq 1 μ g/g de poeira, sendo que em 4 (30,8%) o índice estava entre 1 e 10 μ g/g de poeira, enquanto que em 9 (69,2%) os níveis detectados foram superiores a 10 μ g de Can f 1/g de poeira. Já em relação à presença de cão e gato, em 60% das amostras (6/10) detectou-se níveis superiores a 1 μ g de Can f 1/g de poeira e em 40% (4/10) níveis superiores a 1 μ g de Fel d 1/g de poeira, enquanto que nas amostras com presença apenas do gato 40%(4/10) apresentaram níveis \geq 1 μ g de Fel d 1 /g de poeira.

Dentre as 20 (33,3%) amostras de automóveis com ausência de animais na residência do condutor, 5 (25%) apresentaram níveis significativos (\geq 1 μ g/g de poeira) de alérgenos Can f 1 e 1 (5%) nível significativo do alérgeno Fel d 1.

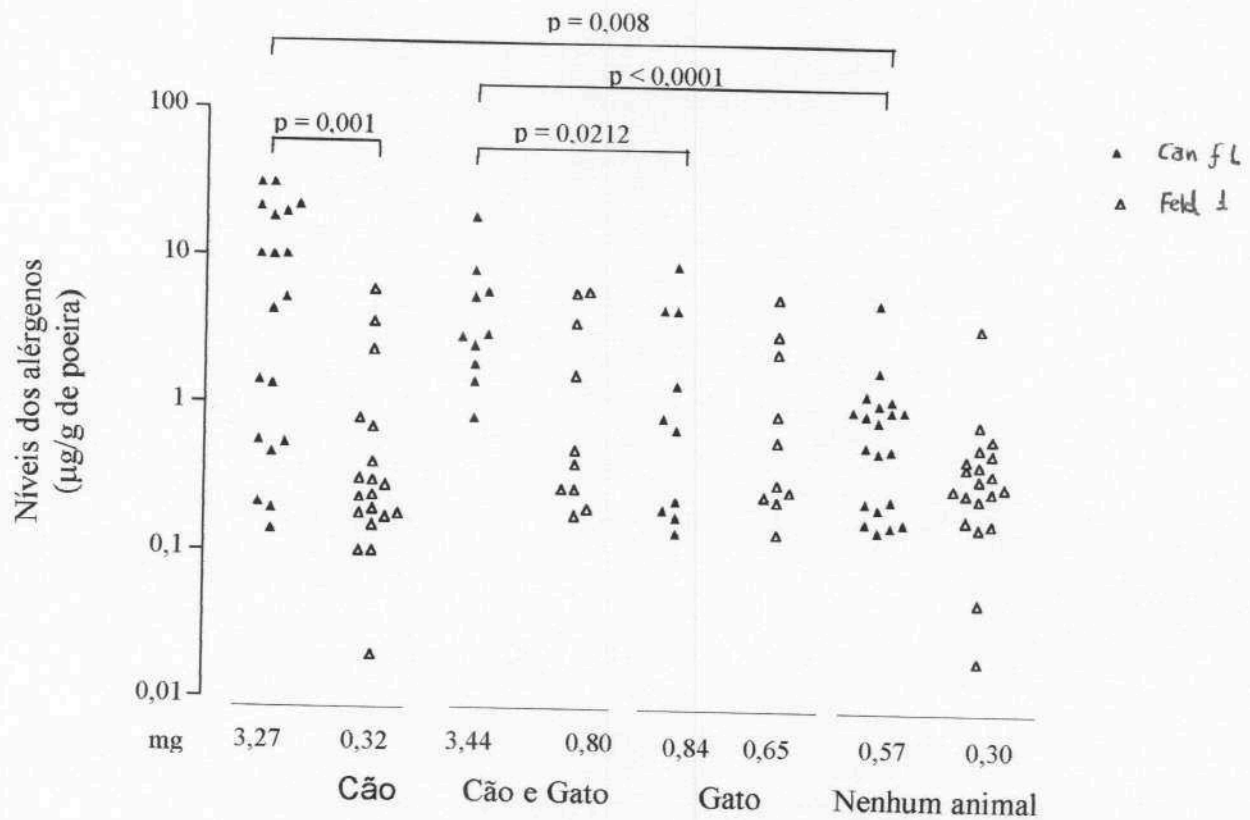


Figura 4. Níveis dos alérgenos de animais: *Canis familiaris*, Can f 1; *Felis domesticus*, Fel d 1 expressos em $\mu\text{g/g}$ de poeira, em amostras de poeira coletadas de 60 automóveis considerando a presença dos animais na residência dos condutores. mg = média geométrica.

Quanto ao costume de transportar ou não os animais domésticos, cão e/ou gato nos automóveis, observa-se diferença estatisticamente significativa entre os alérgenos Can f 1 e Fel d 1 tanto quando se transporta estes animais ($mg = 5,68 ; 0,69$ e $p = 0,0011$) como quando não se transporta ($mg = 1,01; 0,38$ e $p = 0,0007$) e também entre os níveis de Can f 1 quando se transporta ou não transporta o cão ($mg = 5,68; 1,01$ e $p = 0,0003$). Não houve diferença significativa entre as médias geométricas das amostras de poeira de automóveis que costumam transportar o gato e as que não costumam transportar o animal (Figura 5).

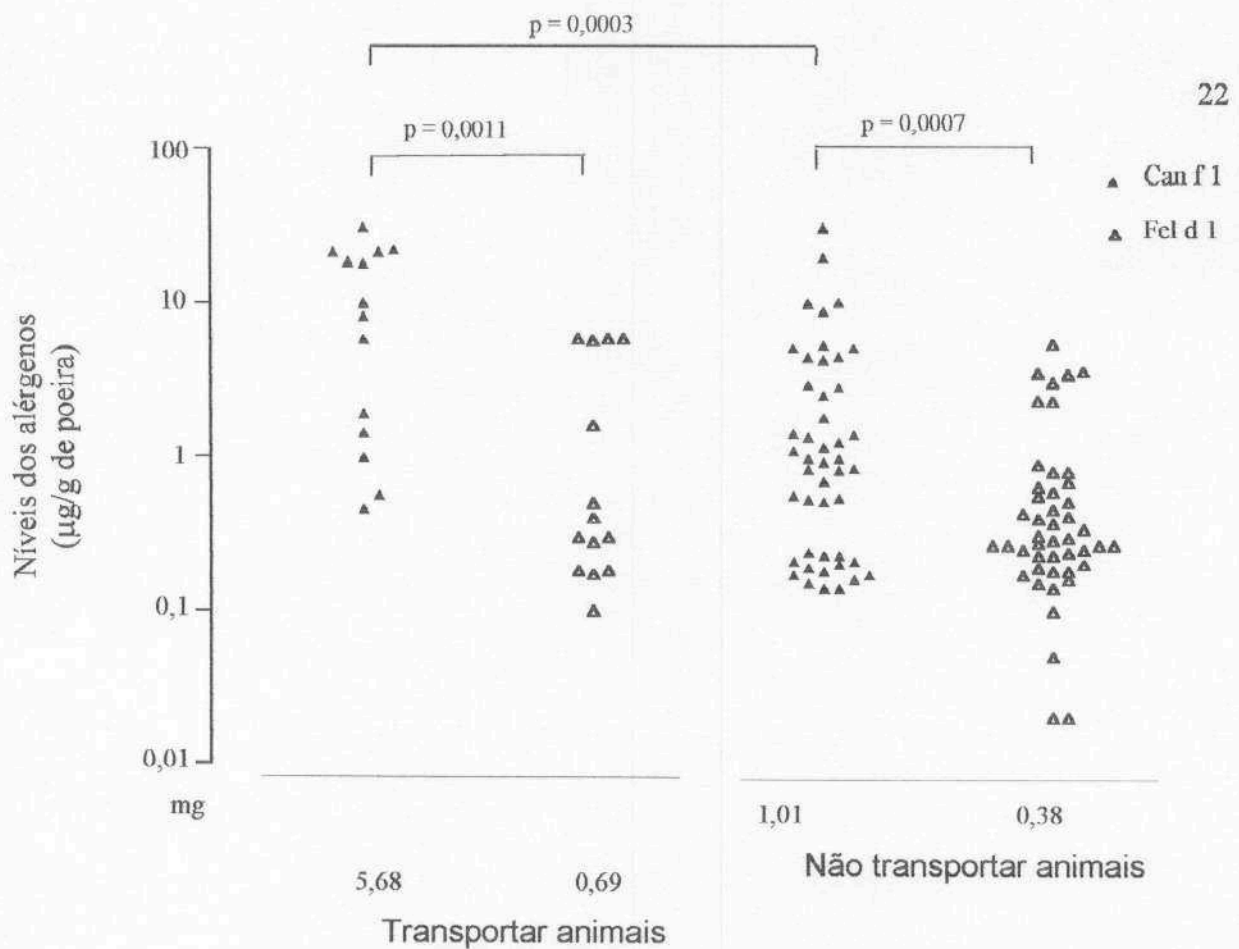


Figura 5. Níveis dos alérgenos de animais: *Canis familiaris*, Can f 1; *Felis domesticus*, Fel d 1 expressos em µg/g de poeira, em amostras de poeira coletadas de 60 automóveis considerando o transporte ou não de animais. mg = média geométrica.

5) DISCUSSÃO

Sabendo-se que os alérgenos de poeira exercem papel fundamental na sensibilização ou no desencadeamento de sintomas agudos de reações alérgicas, nesse estudo optou-se por estudar os alérgenos de ácaros mais prevalentes na poeira, Der p 1 (SPORIK *et al.*, 1990) e Der f 1 (SOPELETE, 2000) e os principais alérgenos de animais domésticos, cão – Can f 1 e gato – Fel d 1.

Vários estudos relataram o ácaro *D. pteronyssinus* como mais importante e prevalente nas residências brasileiras (ARRUDA *et al.*, 1991; GELLER *et al.*, 1993; GELLER *et al.*, 1995; SARINHO *et al.*, 1996) em relação ao ácaro *D. farinae*. Entretanto, estudos realizados em Uberlândia relataram a prevalência de alérgenos *D. farinae* sobre *D. pteronyssinus* (SOPELETE, 2000) por isto o estudo de ambos no presente trabalho.

Os níveis de alérgenos são dependentes de vários fatores ambientais. O destaque maior no caso dos ácaros é para a temperatura e a umidade relativa do ar (DUFF & PLATTS-MILLS *et al.*, 1992), porém outros fatores ambientais são importantes como a movimentação das partículas alergênicas (SAKAGUCHI *et al.*, 1989), a ventilação e atividade humana ou animal (SAKAGUCHI *et al.*, 1993), entre outros.

Nos E.U.A, estimativas do comportamento humano sugerem que a maioria da população permanece cerca de 23 horas por dia em ambientes fechados ou em meio de transportes (PLATTS-MILLS, 1996).

Outros estudos têm mostrado que locais públicos como hospitais, escritórios, cinemas e escolas têm menores níveis de concentração de alérgeno do que nas casas, devido ao nível de ocupação, uso de ar condicionado e frequência de limpeza (GREEN *et al.*, 1992).

Contudo, esses locais podem apresentar níveis de alérgenos suficientes para sensibilizar indivíduos geneticamente predispostos.

Parece claro que deva existir um nível no qual seja improvável de ocorrer a sensibilização. Para os alérgenos Der p 1 e Der f 1, nível de $2\mu\text{g}$ de alérgenos/g de poeira tem sido definido como um valor provável de induzir sensibilização e níveis mais elevados ($\geq 10\mu\text{g}$ de alérgenos/g de poeira) podem causar exacerbação da doença alérgica em indivíduos predispostos e alérgicos à ácaros (POLLART *et al.*, 1991), embora este último valor seja contestado no 3º encontro internacional de ácaros de poeira e asma, realizado na Inglaterra (PLATTS-MILLS *et al.*, 1997). A importância desses níveis foi reforçada em outros estudos (PLATTS-MILLS & DE WECK, 1989; SPORIK *et al.*, 1990; ARRUDA *et al.*, 1991).

Entretanto, existe uma minoria de indivíduos alérgicos que requer menor ou maior exposição. Portanto, níveis $\geq 2\mu\text{g}$ de alérgenos Der p 1 ou Der f 1/g de poeira e, principalmente, $\geq 10\mu\text{g}$ de alérgenos/g de poeira devem ser melhor considerados como uma concentração acima da qual a "maioria" dos indivíduos alérgicos a ácaros desenvolverão sintomas (PLATTS-MILLS *et al.*, 1995).

Na presente investigação, índice de exposição alergênica para ácaros em níveis $\geq 2\mu\text{g/g}$ de poeira (fator de risco para sensibilização) foram encontrados em apenas 1(1,6%) amostra para Der p 1 e 1(1,6%) para Der f 1, não sendo detectados índice de exposição alergênica em níveis elevados ($\geq 10\mu\text{g/g}$ de poeira), como em estudos realizados na Finlândia em veículos de transporte públicos, nos quais os níveis de alérgenos de ácaros foram $< 0,05\mu\text{g/g}$ (PARTTI-PELLINEN *et al.*, 1999). Isto porque as condições no interior do automóvel são desfavoráveis à reprodução e sobrevivência dos ácaros, principalmente temperaturas elevadas e baixa umidade do ar.

Em relação ao alérgeno de cão, Can f 1 (*Canis familiares*), o valor de $1\mu\text{g/g}$ de poeira tem sido sugerido como um fator de risco para sensibilização, enquanto que

níveis $\geq 10\mu\text{g/g}$ têm sido considerado por alguns autores como um nível (fator de risco) provável de causar exacerbação da doença alérgica (INGRAM *et al.*, 1995).

Entre as amostras de poeira de automóveis analisadas, Can f 1 foi o alérgeno mais freqüentemente encontrado com níveis variando entre $0,14\mu\text{g/g}$ e $30,96\mu\text{g/g}$ de poeira, sendo que em 21 (35%) amostras foram detectados valores superiores a $1\mu\text{g/g}$ de poeira, dentre as quais 11 (18,3%) apresentavam valores superiores a $10\mu\text{g/g}$ de poeira.

Consideráveis concentrações de alérgenos de cão e gato têm sido encontradas em poeira de ambientes públicos, incluindo transportes público no Reino Unido (CUSTOVIC *et al.*, 1994), Suécia (MUNIR, 1994) e Finlândia (PARTTIPELLINEN *et al.*, 1999).

Quanto ao alérgeno de gato (*Felis domesticus*, Fel d 1), o valor de $1\mu\text{g/g}$ de poeira tem sido relatado como fator de risco para sensibilização e $8\mu\text{g/g}$ de poeira, em vários estudos como um fator elevado (GELBER *et al.*, 1993). Neste estudo, em 12 (20%) amostras foram encontrados níveis considerados como fator de risco para sensibilização, mas em nenhuma amostra verificou-se valores elevados.

Quando analisados o tempo de uso dos automóveis observou-se que não há diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os diversos tempos de uso, o que demonstra que a idade do automóvel não interfere no nível de exposição alergênica nem para os alérgenos de ácaros e nem para os alérgenos de animais, embora os índices mais elevados de Der p 1 e Can f 1 tenham sido encontrados em automóveis com mais de 10 anos de uso, o que sugere uma tendência dos níveis serem maiores em automóveis com mais anos de uso.

O mesmo pôde ser observado em relação ao número médio de ocupantes do automóvel, onde o número de ocupantes não interfere no nível de alérgenos de ácaros e animais.

Quanto ao fato do proprietário ou condutor do automóvel possuir animais domésticos (cão e/ou gato) em suas residências observou-se que em relação ao alérgeno Can f 1 há uma diferença estatisticamente significativa entre possuir cão e não possuir animais, mas o mesmo não pode ser dito em relação ao alérgeno Fel d

1 quando comparadas amostras de proprietários que possuem gato com aquelas de proprietários que não possuem animais.

Assim como em estudos que relacionam a presença de animais e o nível de exposição alergênica em poeira domiciliar, neste estudo observou-se forte associação entre níveis elevados dos alérgenos Can f 1 e Fel d 1 com a presença dos respectivos animais (SOUZA, 1998). Entretanto é importante ressaltar que a ausência destes animais nas residências não se associa com a ausência dos alérgenos como evidenciado neste estudo onde em 5 (25%) amostras foram detectados níveis significativos ($\geq 1\mu\text{g/g}$ de poeira) de alérgenos Can f 1 e em 1 (5%) nível significativo do alérgeno Fel d 1. Isto ocorre porque estes alérgenos podem ser carregados com facilidade através de roupas de pessoas que entraram em contato direta ou indiretamente com animais (PARTTI-PELLINEN *et al.*, 1999; INGRAM *et al.*, 1995). Portanto, estes alérgenos devem ser uma constante preocupação na orientação de pacientes sensíveis a cão e/ou gato.

Quando se analisou o costume de transportar ou não os animais domésticos nos automóveis, evidenciou-se que existe diferença estatisticamente significativa entre transportar o cão e não transportar, mas não entre transportar ou não o gato. Entretanto, níveis significativos de alérgenos podem ser encontrados mesmo em automóveis que não costumam transportar os animais, em decorrência de fatores como a movimentação das partículas alergênicas, o carregamento dos alérgenos pelas roupas e calçados de pessoas que entraram em contato com o animal na própria residência ou não, a ventilação, a limpeza insatisfatória do automóvel e outros fatores.

Segundo GELBER *et al.* (1993), a exposição não é o único fator de risco para a manifestação alérgica. Outros fatores como poluição atmosférica, dieta, infecções virais agudas (SARPONG & KARRISON, 1998) teriam papel importante.

Entretanto, técnicas efetivas de redução da exposição aos aeroalérgenos seja em residências ou veículos em que passamos considerável parte do tempo, pode não somente reduzir como também prevenir a sensibilização em indivíduos pela primeira vez expostos (SARPONG & KARRISON, 1998). Isso foi reforçado por PLATTS-MILLS *et al.* (1982) demonstrando que uma redução $>95\%$ na exposição

alergênica pode levar à redução de sintomas de hiperreatividade brônquica em indivíduos atópicos.

Portanto, medidas de controle ambiental podem ser tomadas tão logo seja definida a sensibilidade individual a alérgenos inaláveis. Automóveis com carpetes e estofamento em tecido devem ser aspirados regularmente, o transporte de animais domésticos deve ser evitado e indivíduos alérgicos devem até mesmo evitar possuir animais, ainda que a ausência do animal não esteja diretamente relacionada a ausência do alérgeno devido à possibilidade deste ser carregado com facilidade em diversos ambientes.

6) CONCLUSÕES

- Medidas de controle para reduzir a exposição aos diferentes alérgenos de poeira de automóveis podem ser facilmente adotadas após o conhecimento e determinação dos níveis de exposição alérgica em automóveis, medidas estas simples mas eficientes como limpeza regular do automóvel, evitar transportar animais nos automóveis e até mesmo possuir animais se os indivíduos são alérgicos, evitando-se o aparecimento de sintomas e também a sensibilização em indivíduos pela primeira vez expostos.

7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS. *Imunologia celular e molecular*. 3ed. Rio de Janeiro: Revinter, 486p., 2000.
- ALBUQUERQUE AC de, GUIMARÃES AMT, FERNANDES AKA, OLIVEIRA MAP de. *Estudo da Acarofauna em poeira domiciliar em Pernambuco*. In: XXII Congresso Brasileiro de Zoologia (Resumos). Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 1998.
- ANDERSON MC, BAER H. Allergenicly active components of cat allergen extracts. *J. Immunol*, 127:972, 1981.
- ANDRADE AD de, BIRNBAUM J, MAGALON C, MAGNOR JP, LANTEAUME A, CHARPIN D, VERVLOET D. Fel d 1 levels in cat anal glands. *Clin. Exp. Allergy*, v.26, n.2, p. 178-180, 1996.
- ARRUDA LK, RIZZO MC, CHAPMAN MD, FERNANDEZ-CALDAS E, BAGGIO D, PLATTS-MILLS TAE, NASPITZ CK. Exposure and sensitization to house dust mite allergens among asthmatic children in São Paulo, Brazil. *Clin. Exp. Allergy*, v.21, p.433-439, 1991.
- BARNES KC & RUPPERT EE. *Zoologia dos invertebrados*. Traduzido por Paulo Marcos Oliveira. 6ed. São Paulo: Roca, 1026p., 1996.
- BENJAMINI E & LESKOWITZ S. *Immunogens and antigens*. In: *Immunology a short course*. New York: Alan R. Liss, 390p., p.31-42, 1988.

- CHAPMAN MD. Monoclonal antibodies to the major feline allergen Fel d 1. 2. Single step affinity purification of Fel d 1, N-terminal sequence analysis, and development of a sensitive two-site immunoassay to assess Fel d 1 exposure. *J. Immunol*, p.140-812, 1998.
- CUSTOVIC A, TAGGART SCO, WOODCOCK A. House dust mite and cat allergen in different indoor environments. *Clin. Exp. Allergy*, n.24, p.1164-1168, 1994.
- CUSTOVIC A, GREEN R, TAGGARAT SCO, SMITH A, PICKERING CA, CHAPMAN MD, WOODCOCK A. Domestic allergens in public places. II. Dog, Can f 1 and cockroach (Blag2) allergens in dust and mite, cat, dog and cockroach allergens in the air in public buildings. *Clin. Exp. Allergy*, n.26, p.1246-1252, 1996.
- CUSTOVIC A, SIMPSON A, CHAPMAN MD, WOODCOCK A. Allergen avoidance in treatment of asthma and atopic disorders. *Thorax*, 53-63, 1998.
- DECANINEL D. & PERELLI MAS. *Identificação da acarofauna de poeira domiciliar em residências de Campo Grande/ Mato Grosso do Sul*. In: XXII Congresso Brasileiro de Zoologia (Resumos). Recife: Universidade Federal de Pernambuco. 1998.
- DUFF AL, PLATTS-MILLS TAE. Allergens and asthma. *Pediatrics Clinics of North America*, v.39, n.6, p.1277-1291, 1992.
- EGMAR L, EMENIUS G, AXELSSON G, PERSHAGEN G, WICKMAN G. Direct and indirect exposure to cat (Fel d 1) and dog (Can f 1) allergens in homes. *J. Allergy Clin. Immunol*, p.91-324, 1993.
- FERNANDEZ-CALDAS E, PUERTA L, MERCADO B, LOCKEY RF, CARABALLO LR. Mite fauna, Der p 1, Der f 1 and *Blomia tropicalis* allergen levels in a tropical environment. *Clin. Exp. Allergy*, p. 23-292, 1993.
- GELBER LE, SELTZER LH, BOUZOVKIS JK, POLLART SM, CHAPMAN MD, PLATTS-MILLS TAE. Sensitization and exposure to indoor allergens as risk factors for asthma among patients presenting to hospital. *Am. Revista Respir. Dis.*, n.147, p.573-578, 1993.

- GELLER M, ESCH RE, FERNANDEZ-CALDAS E. Características imunológicas da sensibilização acarina respiratória no Rio de Janeiro. *In. Acad. Nac. Med.*, v.155, n.2, p.76-78, 1995.
- GELLER M, ESCH RE, FERNANDEZ-CALDAS E. Sensibilização acarina na atopia respiratória do Rio de Janeiro – considerações preliminares. *Anal Acad. Nac. Med.*, v.153, n.4, p.174-175, 1993.
- GREEN WF, MARKS GB, TOVEY ER, TOELLE BG, WOOLCOCK AJ. House dust mites and mite allergens in public places. *J. Allergy Clin. Immunol*, v.89, p.1196-1197, 1992.
- HOOVER GE & PLATTS-MILLS TAE. What the pulmonology needs to know about allergy. *Clin. Chest. Med.*, p.16-603, 1995.
- HOWARTH PH. A alergia está aumentando? Influências das primeiras fases da vida. *Clin. Exp. Allergy*, v.28 (suplemento 6), p.5-10, 1998.
- INGRAM JM, SPORIK R, ROSE G, HONSINGER R, CHAPMAN MD, PLATTS-MILLS TAE. Quantitative assesment of exposure to dog (Can f 1) and cat (Fel d 1) allergens: Relation to sensitization and asthma among children living in Los Alamos, New Mexico. *J. Allergy Clin. Immunol*, v.96, n.4, p.449-456, 1995.
- KALINER MA & LEMANSKE R. Rhinitis and asthma. *Jama*, p. 268-2807, 1992.
- KING TP, HOFFMAN D, LOWENSTEIN H, MARSH DG, PLATTS-MILLS TAE, THOMAS W. Allergen nomenclature. *Clin. Exp. Allergy*, v.25, p.27-37, 1995.
- LEITERMAN K, OHMAN JL. Cat allergen 1: Biochemical, antigenic, and allergenic properties. *J. Allergy Clin. Immunol*, p. 74-147, 1998.
- LOWENSTEIN H, GRAVESEN S. Indoor allergens. *J. Allergy Clin. Immunol*, St. Louis, v.78 (5 part 2): 1035-39, 1986.
- LUCZYNSKA CM, ARRUDA LK, PLATTS-MILLS TAE, MILLER JD, LOPEZ M, CHAPMAN MD. A two-site monoclonal antibody ELISA for the quantification of the major *Dermatophagoides* spp. Allergens Der p 1 and Der f 1. *J. Immunol Methods*, v.118, p.227-235, 1989.

- MEDEIROS JR, Manoel. *Sensibilização a aeroalérgenos em indivíduos portadores de Asma Brônquica e/ou Rinite Crônica em Salvador- Bahia, Salvador. 1997. 71p. Tese (Mestrado Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, 1997.*
- OVSYANNIDOVA IG, VAILES LD, LI Y, HEYMANN PW, CHAPMAN MD. Monoclonal antibodies to group II Dermatophagoides spp. Allergens: Murine immune response, epitope analysis and development of a two-site ELISA. *J. Allergy Clin. Immunol*, n.94, p.537-546, 1994.
- PARTTI-PELLINEN K, MARTTILA O, MAKINEN-KILJUNEN S, HAAHTELA T. Occurrence of dog, cat and mite allergens in public transport vehicles. *Allergy*, n.55, 65-68, 2000.
- PLATTS-MILLS TAE & DE WECK AL. Dust mite allergens and asthma – a worldwide problem. *J. Allergy Clin. Immunol*, v.90, p.190-193, 1989.
- PLATTS-MILLS TAE, THOMAS WR, ALLBERSE C, VERVELOET D, CHAPMAN MD. Dust mite allergens and asthma: report of a second international workshop. *J. Allergy Clin. Immunol*, v.89, p.1046-1060, 1992.
- PLATTS-MILLS TAE, CHAPMAN MD, SQUILLACE SP, SPORIK RB, CALL RS, HEYMANN PW. The role of allergens. In: *Asthma: Physiology, Immunopharmacology and treatment*, Fourth International Symposium. London: Academic Press, 1993.
- PLATTS-MILLS TAE, SPORIK RB, WHEATLEY LM, HEYMANN PW. Is there a dose-response relationship between exposure to indoor allergens and symptoms of asthma? *J. Allergy Clin. Immunol*, v.96, n.4, p.435-440, 1995.
- PLATTS-MILLS TAE. Estimation of allergen concentration in indoor environments: Prediction of health-related effects. In: GAMMAGE RB & BERVEN BA (Ed). *Indoor air and human health*. 2ed, Boca Raton: CRC Press, p.197-210, 1996.

- PLATTS-MILLS TAE, VERVLOET D, THOMAS WR. Indoor allergens and asthma; report of the Third International Workshop. *J. Allergy Clin. Immunol*, v.100, n.6, p.S1-S23, 1997.
- POLLART SM, CHAPMAN MD, SMITH TF, MORRIS EC, GELBER LE, PLATTS-MILLS TAE. Environmental exposure to cockroack allergens. Analysis with monoclonal antibody-based enzyme immunoassays. *J. Allergy Clin. Immunol*, n.87, p.505-510, 1991.
- POPE AM, PATTERSON R, BURGE H. *Indoor allergens. Assessing and controlling adverse health effects*. Washington, DC: National Academic Press, 1993.
- PRESCOTT S, MACAUBAS C, SAMALLACOMBE T, HOLT BJ, SLY PD, HOLTP G. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet*, v.353, n.16, p.196-200, 1999.
- RIOS, João Bosco de Magalhães. Alergia Cutânea: Urticária e Angiodema, Dermatite Atópica. *Manual de Alergia e Imunologia*. Sociedade Brasileira de Pediatria. Comitê de Alergia e Imunologia. Coordenador Charles k. Naspitz. Rio de Janeiro, 1990.
- ROITT I, BROSTOFF J, MALE D. *Imunologia*. 5ed. São Paulo: Manole, 1998.
- SAKAGUCHI M, INOUE S, IRIE T, YASUEDA H, YOSHIKAWA S, SHIDA T. Measurement of allergens associated dust mite allergy. II. Concentration of airborne mite allergens (Der p 1 and Der p 2) in the houses. *Int. Arch. Allergy Apply Immunol*, v.90, p.190-193, 1989.
- SAKAGUCHI M, INOUE S, IRIE T, MIYAZAWA H, WATANABE M, YASUEDA H, SHIDA T, NITTA H, CHAPMAN MD, SCHOU C, AALBERSE RC. Airborne cat (Fel d 1), dog (Can f 1), and mite (Der p 1 and Der p 2) allergen levels in the homes of Japan. *J. Allergy Clin. Immunology*, v.92, n.6, p.797-801, 1993.
- SARINHO E, FERNANDEZ-CALDAS E, JUST E, SOLE D. Ácaros da poeira domiciliar em residências de crianças asmáticas e controles da cidade do Recife, Pernambuco. *Revista Bras. Alerg. Imunopatol.*, v.19, n.5, p.228-230, 1996.

- SMITH JM & SPRINGETT VH. Atopic disease and month of birth. *Clin. Allergy* p.36-263, 1981.
- SOPELETE, Mônica Camargo. *Sensibilização e Exposição a Alérgenos Domiciliares entre Pacientes Asmáticos de Uberlândia, MG*. Uberlândia, 2000. 115p. (Tese de Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, 2000.
- SOPELETE MC, SILVA DAO, ARRUDA LK, CHAPMAN MD, TAKETOMI EA. *Dermatophagoides farinae* (Der f 1) and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 1) allergen Exposure among subjects living in Uberlândia, Brazil. *Int. Arch. of Allergy and Immunology*, n.617, 2000.
- SOUZA, Gláucia Guimarães de. *Exposição a alérgenos inalantes domiciliares entre pacientes asmáticos de Uberlândia – MG*. Uberlândia, 1998. 40p. (Monografia) – Centro de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, 1998.
- SPORIK R, HOLGATE ST, PLATTS-MILLS TAE, COGSWELL JJ. Exposure to house-dust mite allergen (Der p 1) and the development of asthma in childhood. *The new England Journal of Medicine*, n.323, p.502-507, 1990.
- TERR AI. The atopic diseases. In: STITES DP, TERR AI, PARSLOW TG. *Medical Immunology*, 9ed. Stamford: Appleton & Lange, 900p., p.389-408, 1997.
- TSAI, JJ. Sensitization to *Blomia tropicalis* among asthmatics patients in Taiwan. *Intl. Arch. Allergy Immunol*, p.115-144, 1998.
- VOORHORST R, SPIEKSMATA FTM, VAREKAMP N. House dust mite atopy and the house dust mite. *Dermatophagoides pteronyssinus*. Leiden, Stafleu's Scientific Publishing Co., 1969.
- WANDELSEN NF. Mecanismos Básicos das Respostas Imunitária e Alérgica. *Manual de Alergia e Imunologia*. Soc. Bras. de Pediatria. Comitê de Alergia e Imunologia. Coordenador Charles k. Naspitz. Rio de Janeiro, 1990.
- WOOD RA, EGGLESTON PA, LIND P, INGEMANN L, SCHWARTZ B, GRAVESSON S, TERRY D, WHEELER B, ADKINSON FJR. The effect of cat

removal on allergen content in household-dust samples. *J. Allergy Clin. Immunol.*, p.83-730, 1989.

ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia
Unidade de Pesquisa em Alergia
Telefax: (034)218-2333
Av. Pará 1720 - Campus Umuarama 38400-902 Uberlândia MG

IDENTIFICAÇÃO DO VEÍCULO:

NOME DO CONDUTOR:

MARCA DO VEÍCULO:

ANO DE FABRICAÇÃO:

INFORMAÇÕES GERAIS:

1. Entre os ocupantes mais frequentes do automóvel existe casos de alergia respiratória (asma, bronquite ou rinite) ou de dermatite alérgica?

SIM

NÃO

2. Quantas pessoas em média ocupam o veículo?

1-2

3-5

3. A família proprietária do veículo possui animais domésticos?

SIM

NÃO

Quais e Quantos?

Cão

Gato

outros

4. Costuma transportar animais no automóvel? Com qual frequência?

SIM

NÃO

Uberlândia, _____ de _____ de 2000.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia
Unidade de Pesquisa em Alergia
Telefax: (034)218-2333
Av. Pará 1720 - Campus Umarama 38400-902 Uberlândia MG

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____,
concordo em participar do projeto de pesquisa intitulado **“Exposição a alérgenos inaláveis em veículos automotores”**, que será realizado nesta unidade de ensino e pesquisa, estando ciente dos seguintes aspectos:

- Necessidade de coletas de amostras de poeira no interior do automóvel;
- Necessidade de preenchimento de questionário próprio e de termo de consentimento;

Terei a garantia de receber resposta a qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, benefícios e outros assuntos relacionados com a investigação.

Será respeitado o caráter confidencial das informações fornecidas, não sendo permitida a minha identificação ou do automóvel.

Uberlândia, _____ de _____ de 2000.

Automóvel	Tempo de uso, em anos	km	Número médio de ocupantes	Possui animais	Transporte de animais	Alergia	DP1 (µg/g de poeira)	DF1 (µg/g de poeira)	CANF1 (µg/g de poeira)	FELD1 (µg/g de poeira)
A1	6	61	3	N	N	N	0,14	0,27	0,17	0,16
A2	2	16,4	3	N	N	S	0,11	0,28	0,92	0,18
A3	0,166667	3,3	1	1C	N	S	0,06	0,12	1,35	0,18
A4	1	11,1	1	N	N	S	0,11	0,26	1,16	0,64
A5	1	74,5	1	N	N	S	0,19	0,27	0,51	0,37
A6	5	127,2	3	1C	S	N	0,15	0,27	10,14	0,30
A7	16	312,2	3	1C/2G	S	N	0,07	0,09	5,88	5,90
A8	2	56,1	1	N	S	N	0,13	0,30	0,98	0,30
A9	3	72	3	1C	N	S	0,10	0,06	0,19	0,19
A10	1	109,7	1	N	N	S	0,14	0,45	0,53	0,43
A11	6	1001,2	3	1C	N	S	0,16	0,18	0,54	0,15
A12	1	10,6	1	N	N	N	0,61	1,29	0,97	0,51
A13	3	75,6	1	1C	S	N	0,42	0,29	18,27	5,90
A14	19	68,5	1	1C	S	N	0,07	0,14	30,96	0,17
A15	0,16	4,2	1	1C	S	S	0,08	0,56	21,48	0,40
A16	2	49,7	1	N	N	N	0,07	0,06	0,21	0,02
A17	7	90,4	1	N	N	N	0,07	0,06	0,56	0,28
A18	1	16,6	3	1C	N	S	0,42	0,14	5,13	3,56
A19	9	86,2	1	N	N	S	0,09	0,16	0,15	0,80
A20	8	1329,2	3	1C	N	S	0,29	0,12	30,96	0,10
A21	13	193,6	3	1G	S	N	0,35	0,46	21,48	5,90
A22	6	912,9	3	1C	N	S	0,11	1,98	0,21	0,69
A23	2	52	3	12C	S	N	0,45	2,19	0,56	0,18
A24	5	73,4	3	N	N	S	0,06	0,21	5,13	0,05
A25	14	1612,4	3	12C	N	N	0,07	0,07	0,14	0,02
A26	0,083333	1,1	3	N	N	S	0,10	0,37	0,16	0,34
A27	2	109,1	1	N	N	N	0,07	0,09	0,24	3,52
A28	3	66,3	1	1C	S	S	0,12	1,21	0,46	0,28
A29	2	54,2	3	1C	S	S	0,10	0,26	22,15	0,10
A30	1	44,5	3	2C/1G	N	N	0,07	0,77	5,38	3,61
A31	7	197,9	1	6G	N	N	0,62	0,17	0,2	0,23
A32	9,00	85,8	3	6G	N	S	0,28	0,12	0,14	0,27
A33	9	89	3	6G	N	S	0,58	0,82	0,7	0,3
A34	10	24,7	3	1C/6G	N	N	0,28	0,39	0,82	0,27
A35	12	289	3	6G	N	N	0,78	0,79	0,23	0,59

A36	18	69,8	3	6G	N	S	0,32	0,33	4,46	5,48
A37	14	102,1	3	1C/1G	S		0,63	0,41	8,16	1,6
A38	5	53,6	1	1G	N		0,39	0,22	4,51	3,07
A39	20	253,4	3	2C/1G	S		0,48	0,42	1,9	0,18
A40	8	77,8	3	3C/1G	S		0,46	0,44	1,44	0,5
A41	4	64,1	1	1C/1G	S		0,38	0,19	18,82	5,75
A42	6	68	3	1C	N		0,53	1,8	10,16	0,31
A43	7	9319,7	1	N	N		0,3	0,12	1,09	0,46
A44	1	2656,1	1	N	N		0,85	0,29	1,8	0,41
A45	4	520,8	3	1G	N		0,37	0,26	0,84	0,25
A46	1	345,3	1	N	N		0,7	2,07	0,17	0,56
A47	9	601,9	3	1C/1G	N		0,3	0,56	2,86	0,2
A48	21	685,6	3	N	N		0,36	0,13	0,23	0,29
A49	21	179	3	N	N		0,56	0,3	0,97	0,27
A50	11	828,6	3	1C/1G	N		0,23	0,58	2,99	0,27
A51	20	1804,6	3	2G	N		0,33	0,29	8,98	2,35
A52	12	67,8	3	1C	N		0,4	0,11	4,34	0,23
A53	7	401,5	3	1G	N		0,19	0,08	0,18	0,14
A54	6	153,1	3	1C/1G	N		0,53	0,19	2,52	0,4
A55	15	135,7	3	1C	N		0,13	0,08	20	2,32
A56	4	90	3	1C	N		0,46	0,57	1,43	0,24
A57	5	61,9	3	1G	N		0,78	1,13	1,4	0,89
A58	11	157,2	1	N	N		0,46	0,3	0,83	0,17
A59	6	130,6	3	N	N		0,33	0,54	1,25	0,25
A60	5	35,7	1	3C	N		2,05	1,16	10,25	0,8

Informações gerais sobre os automóveis.