

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAURA MARIA LACERDA ARAUJO

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIZAÇÃO ALÉRGICA À MARIPOSA DO BICHO-DA-SEDA
(*Bombyx mori*) POR ANTICORPOS IgE EM PACIENTES COM ALERGIA
RESPIRATÓRIA

CURITIBA

2013

LAURA MARIA LACERDA ARAUJO

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIZAÇÃO ALÉRGICA À MARIPOSA DO BICHO-DA-SEDA
(*Bombyx mori*) POR ANTICORPOS IgE EM PACIENTES COM ALERGIA
RESPIRATÓRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração: Alergia e Imunologia Pediátrica.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho

CURITIBA

2013

A663 Araujo, Laura Maria Lacerda.
Avaliação da sensibilização alérgica à mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) por anticorpos IgE em pacientes com alergia respiratória / Laura Maria Lacerda Araujo. – Curitiba, 2013.
111 f.: il.; color.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho.
Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Bombyx. 2. Alérgenos - testes cutâneos - hipersensibilidade imediata. 3. Imunização. 4. Asma. 5. Rinite alérgica sazonal. I. Título. II. Rosário Filho, Nelson Augusto.

NLM: QW 900



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Programa de Pós-Graduação Mestrado e Doutorado
em Saúde da Criança e do Adolescente



Parecer

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO -
MESTRADO E DOUTORADO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE, do

Setor de Ciências Saúde, da Universidade Federal do Paraná, após arguir a Mestranda

Laura Maria Lacerda Araujo,

em relação ao seu trabalho de Dissertação intitulado:

**"AVALIAÇÃO DA SENSIBILIZAÇÃO ALÉRGICA À MARIPOSA
DO BICHO-DA-SEDA (*BOMBYX MORI*) POR ANTICORPOS IGE
EM PACIENTES COM ALERGIA RESPIRATÓRIA"**

é de parecer favorável à *Aprovação* da acadêmica, habilitando-a ao título de

Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente,

área de concentração em *Alergia, Imunologia e Pneumologia Pediátrica*

A obtenção do título de Mestre está condicionada às correções sugeridas pelos membros da banca examinadora
e ao cumprimento integral das exigências estabelecidas nas Normas Internas deste Curso de Pós-Graduação.

Curitiba, 14 de maio de 2013.

Nelson Augusto Rosário Filho
Professor Nelson Augusto Rosário Filho
UFPR, Orientador e Presidente da Banca Examinadora.

Fábio Fernandes Morato Castro
Professor Fábio Fernandes Morato Castro
USP, Primeiro Examinador.

Herberto José Chang Neto
Professor Herberto José Chang Neto
UNICENP, Segundo Examinador.

Rosana Marques Pereira
Professora Rosana Marques Pereira
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação
Mestrado e Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente

A meus pais Juarês e Inês, minha irmã Isabel pelo que representam em minha vida;
Aos amigos Ricardo, Hevertton e Cynthia pelo grande incentivo;
Ao meu marido Guilherme pelo apoio incondicional;
Ao meu filho André por iluminar meus dias.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho, orientador deste estudo, por abrir as portas para o ingresso à pesquisa e pelo constante incentivo.

À Michele Zimolo Varasquim, bioquímica do laboratório do Hospital de Clínicas, pela dedicação ao realizar as análises de IgEs específicas séricas deste estudo.

À Dra. Helena Homem de Melo, bioquímica do Hospital de Clínicas pela colaboração no preparo do extrato alergênico.

À Prof^a Dra. Mônica Lima Nunes pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Dra. Loraine Farias Landgraf pelo desprendimento em fornecer parte do projeto que deu início a esta pesquisa.

Às médicas residentes do serviço de Alergia e Pneumologia pediátrica do Hospital de Clínicas Daniele Banhuk, Débora Brito, Carolina Thieme, Daniela Tibúrcio pela ajuda nos ambulatórios.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudo para realização do mestrado.

Ao programa de pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente pelo apoio financeiro para realização das IgEs específicas pelo ImmunoCAP®.

RESUMO

A importância dos insetos como agentes sensibilizantes nas doenças alérgicas respiratórias é discutida há décadas. O alérgeno da mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) é capaz de desencadear sintomas de asma e rinite alérgica, não somente por exposição ocupacional (sericicultura), mas também ambiental. No Japão foi detectada alta frequência de positividade ao extrato alergênico de *Bombyx mori* por meio de testes cutâneos e IgE específica sérica em pacientes com asma e rinoconjuntivite. No Brasil, há pouca informação sobre sensibilização à mariposa. Os objetivos deste estudo foram preparar extrato antigênico da mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) e com ele realizar testes cutâneos alérgicos por puntura em pacientes com diagnóstico de asma e/ou rinite alérgica na cidade de Curitiba, determinar os níveis séricos de IgE específica à *Bombyx mori* e a outros seis aeroalérgenos pelo método ImmunoCAP® na mesma população e relacionar as frequências de positividade entre os dois métodos e com dados clínicos. Foram selecionados 99 crianças e adolescentes com diagnóstico de asma e/ou rinite alérgica do Ambulatório de Alergia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, que apresentavam reatividade cutânea a pelo menos um de seis aeroalérgenos comuns (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Lolium multiflorum*, epitélio de cão e de gato). Foram avaliados dados clínicos e epidemiológicos destes pacientes, realizado teste cutâneo alérgico por puntura com extrato previamente preparado de *Bombyx mori* (concentração peso/volume 1:20) e realizada coleta de sangue para análise de IgE total e específicas (*Bombyx mori*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, epitélio de cão e de gato) por ImmunoCAP®. Metade dos pacientes (52,5%) apresentaram positividade ao teste cutâneo alérgico para *Bombyx mori* e 60% tiveram IgE específica sérica positiva para *Bombyx mori*. Sendo o segundo em frequência após os ácaros da poeira (*Blomia tropicalis* 88,9%, *Dermatophagoides pteronyssinus* 86,7%, *Dermatophagoides farinae* 85,8%) e seguido de: *Blattella germanica* 47,5%, epitélio de cão 22,2% e de gato 16,2%. Houve relação entre a positividade do teste cutâneo para *Bombyx mori* e as respectivas dosagens de IgE específica sérica. Observou-se associação entre a positividade ao teste cutâneo para *Bombyx mori* e a presença de rinite alérgica, dermatite atópica e urticária, mas o mesmo não ocorreu para asma e conjuntivite alérgica. Não houve relação com a gravidade dos sintomas de asma ou rinite. Os pacientes sensíveis à *Bombyx mori* (por TCA) apresentaram mais positividade e maiores níveis de IgE específica para *Blattella germanica*. Este é o primeiro estudo sobre sensibilização à mariposa do bicho-da-seda realizado no Brasil. Encontrou-se alta frequência de sensibilização à *Bombyx mori* em pacientes com doenças alérgicas respiratórias em população selecionada na cidade de Curitiba; foi demonstrado que o extrato preparado a partir das asas desta espécie de mariposa é efetivo em demonstrar esta sensibilização.

Palavras-chave: *Bombyx mori*, sensibilização, asma, rinite alérgica.

ABSTRACT

The importance of insects as sensitizing agents in respiratory allergic diseases is discussed for decades. The silkworm moth (*Bombyx mori*) allergen is capable to trigger symptoms of asthma and allergic rhinitis, not only by occupational exposure (sericulture), but also environmental. In Japan, high frequency of positivity to *Bombyx mori* allergenic extract was detected through skin tests and serum specific IgE in patients with asthma and rhinoconjunctivitis. In Brazil, there is little information about sensitization to moth. The objectives of this study were to prepare silkworm moth (*Bombyx mori*) antigenic extract and perform skin prick tests with this extract in patients diagnosed with asthma and/or allergic rhinitis in the city of Curitiba, to determine serum specific IgE to *Bombyx mori* and six other aeroallergens using ImmunoCAP® system in the same population and to relate the frequency of positivity between the two methods and with clinical data. Ninety nine children and adolescents diagnosed with asthma and/or allergic rhinitis who had skin reactivity to at least one of six common aeroallergens (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Lolium multiflorum*, dog and cat epithelia) were selected at the Clinic of Pediatric Allergy, Clinical Hospital, Federal University of Parana. Clinical and epidemiological data of these patients were evaluated, skin prick tests with previously prepared *Bombyx mori*'s extract (weight/volume concentration 1:20) and blood sampling for total and specific IgE (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, dog and cat epithelia) analysis by ImmunoCAP® were performed. Half of patients (52.5%) showed positive skin test to *Bombyx mori* and 60% had positive serum specific IgE to *Bombyx mori*. It was the second group in frequency after dust mites (*Blomia tropicalis* 88.9%, *Dermatophagoides pteronyssinus* 86.7%, *Dermatophagoides farinae* 85.8%) and followed by: *Blattella germanica* 47.5%, dog 22.2% and 16.2% cat epithelia. There was relation between positive skin tests to *Bombyx mori* and the respective levels of specific IgE in serum. An association between a positive skin test for *Bombyx mori* and the presence of allergic rhinitis, atopic dermatitis and urticaria was seen, but the same was not true for asthma or allergic conjunctivitis. There was no relation with the severity of asthma or rhinitis symptoms. Patients sensitized to *Bombyx mori* (by skin test) showed more positivity and higher levels of specific IgE to *Blattella germanica*. This is the first study on silkworm moth sensitization accomplished in Brazil. High frequency of sensitization to *Bombyx mori* was found in a selected population of patients with respiratory allergic diseases in the city of Curitiba; it was shown that the extract prepared from the wings of this moth species is effective in demonstrating this sensitivity.

Keywords: *Bombyx mori*, sensitization, asthma, allergic rhinitis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CASULOS DO BICHO-DA-SEDA	32
FIGURA 2 - MARIPOSAS DA ESPÉCIE <i>Bombyx mori</i>	32

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – NÚMERO DE PACIENTES DE ACORDO COM AS CLASSES DE IgE ESPECÍFICA PARA <i>Bombyx mori</i> (n=99).....	40
GRÁFICO 2 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA <i>BOMBYX MORI</i> DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IgE ESPECÍFICA PARA <i>Bombyx mori</i> (n 99).....	41
GRÁFICO 3 – FREQUÊNCIA DE REATIVIDADE AO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> E PRESENÇA DE RINITE ALÉRGICA (n 99).....	42
GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA QUANTO À POSITIVIDADE DO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> DE ACORDO COM A GRAVIDADE DA RINITE (n 99).....	43
GRÁFICO 5 – FREQUÊNCIA DE REATIVIDADE AO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> E PRESENÇA DE ASMA (n 99).....	44
GRÁFICO 6 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA QUANTO À POSITIVIDADE DO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> DE ACORDO COM A GRAVIDADE DA ASMA (n 99).....	44
GRÁFICO 7 – DIAGRAMA DE DISPERSÃO PARA NÍVEIS DE IgE TOTAL E ESPECÍFICA PARA <i>Bombyx mori</i>	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ESTUDOS SOBRE FREQUÊNCIA DE SENSIBILIZAÇÃO À MARIPOSA.....	23
TABELA 2 – DADOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS (n 99).....	37
TABELA 3– FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE AO TCA COM DIFERENTES ALÉRGENOS (n 99).....	39
TABELA 4 – FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE ÀS IgEs ESPECÍFICAS PELO IMMUNOCAP® (>0,7 KUA/L) E NÍVEIS SÉRICOS DE IgEs ESPECÍFICAS E TOTAL (n 99).....	39
TABELA 5 – ASSOCIAÇÃO ENTRE POSITIVIDADE AO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> E OS DEMAIS TESTES CUTÂNEOS (n 99).....	45
TABELA 6 – NÍVEIS SÉRICOS DE IgE TOTAL E ESPECÍFICAS DE ACORDO COM A POSITIVIDADE AO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> (n 99).....	46
TABELA 7 – FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE ÀS IgEs ESPECÍFICAS DE ACORDO COM A POSITIVIDADE AO TCA PARA <i>Bombyx mori</i> (n 99).....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARIA – *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*

BG – *Blattella germanica*

BT – *Blomia tropicalis*

CAP – Imunoensaio Fluorimétrico

cm – centímetro

DP – *Dermatophagoides pteronyssinus*

DF – *Dermatophagoides farinae*

EUA – Estados Unidos da América

HC-UFPR – Hospital de Clínicas-Universidade Federal do Paraná

FEIA - fluoroenzimaimunoensaio

g – grama

GINA – *Global Initiative for Asthma*

IgA – Imunoglobulina A

IgD - Imunoglobulina D

IgE – Imunoglobulina E

IgG – Imunoglobulina G

kU/L – Unidade de medida para IgE total

kUA/L – Unidade de medida para anticorpos IgE específicos

LM – *Lolium multiflorum*

mg - miligrama

mL – mililitro

mm - milímetro

µm - micrômetro

PES - poliestersulfona

PBS – *Phosphate Buffered Saline*

ROC – *Receiver Operating Characteristic*

TCA – Teste Cutâneo Alérgico

LISTA DE SÍMBOLOS

® - marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS.....	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 HIPERSENSIBILIDADE E ATOPIA.....	18
2.2 SENSIBILIZAÇÃO A ALÉRGENOS INALANTES.....	19
2.3 ALERGIA INALATÓRIA A INSETOS – O PAPEL DA MARIPOSA.....	20
2.3.1 Sericicultura.....	20
2.3.2 Alergia à <i>Bombyx mori</i> no ambiente ocupacional.....	21
2.3.3 Alergia à <i>Bombyx mori</i> na exposição ambiental.....	22
2.4 DETERMINAÇÃO DE IgE ESPECÍFICA PARA <i>Bombyx mori in vivo</i> POR MEIO DE TCA POR PUNTURA.....	26
2.5 DETERMINAÇÃO DE IgE ESPECÍFICA PARA MARIPOSA <i>in vitro</i> POR MEIO DE IMMUNOCAP®.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 TIPO E LOCAL DO ESTUDO.....	29
3.2 CASUÍSTICA.....	29
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	29
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	30
3.5 POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	30
3.6 AMOSTRA E TÉCNICA DE AMOSTRAGEM.....	30
3.7 PROCEDIMENTOS DA PESQUISA.....	30
3.7.1 Dados clínicos e epidemiológicos	30
3.7.2 Preparo do extrato alergênico de <i>Bombyx mori</i>	31
3.7.3 Testes cutâneos alérgicos por puntura.....	33
3.7.4 Coleta de sangue venoso.....	33
3.7.5 Detecção de IgE sérica total e específica pelo método ImmunoCAP®.....	34
3.7.6 Coleta e registro de dados.....	35
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
3.9 ÉTICA EM PESQUISA.....	36
3.10 FOMENTO PARA PESQUISA.....	36
4 RESULTADOS	37

4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA DE ESTUDO.....	37
4.2 RELAÇÃO ENTRE DOSAGENS DE IGES ESPECÍFICAS E TESTES CUTÂNEOS.....	41
4.3 RELAÇÃO ENTRE TCA PARA <i>Bombyx mori</i> E VARIÁVEIS CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS.....	42
4.4 RELAÇÃO ENTRE TCA PARA <i>Bombyx mori</i> E DEMAIS TESTES CUTÂNEOS.....	45
4.5 RELAÇÃO ENTRE DOSAGENS DE IgE SÉRICA TOTAL E ESPECÍFICAS E POSITIVIDADE DO TCA PARA <i>Bombyx mori</i>	46
4.6 CURVAS ROC – SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS VALORES DE IgE ESPECÍFICA À <i>Bombyx mori</i> PARA O DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS ALÉRGICAS.....	47
4.7 CURVAS ROC – SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS NÍVEIS DE IgE TOTAL E ESPECÍFICAS PARA A OCORRÊNCIA DE TCA POSITIVO PARA <i>Bombyx mori</i>	48
4.8 CORRELAÇÃO ENTRE IgE TOTAL E IgEs ESPECÍFICAS.....	48
5 DISCUSSÃO	50
6 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
APÊNDICES	64
ANEXOS	95

1 INTRODUÇÃO

A importância da sensibilização à mariposa tem sido verificada há algumas décadas. Autores japoneses comprovaram alta taxa de sensibilidade em asmáticos por meio de teste intradérmico com extrato de mariposa e borboleta e IgE (imunoglobulina E) específica no soro pelo método RAST (*radioallergosorbent test*) aos mesmos antígenos (KINO; OSHIMA, 1978). Demonstrou-se que há reação cruzada eles e a mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*), cuja sensibilização ocorre não somente por exposição ocupacional (sericultores), como ambiental e é causada principalmente por alérgenos encontrados nas suas asas (KINO; OSHIMA, 1979). Nos Estados Unidos da América foi demonstrada alta concentração de antígenos de mariposa em suspensão no ar durante determinados períodos do ano, concluindo que pode ter distribuição sazonal (WYNN *et al.*, 1988).

Avaliou-se a relevância dos insetos como causadores de rinite alérgica no Japão e encontrou-se reatividade cutânea à *Bombyx mori* por meio de teste intradérmico em aproximadamente um terço dos 80 pacientes estudados (OGINO *et al.*, 1990). Tendência observada igualmente em amostra de 560 indivíduos com rinite alérgica nos quais foi realizado RAST para mariposa e o resultado foi positivo em 32,5%. Nestes últimos, obteve-se ainda alta frequência de positividade à provocação nasal com antígenos de mariposa (OKUDA *et al.*, 2002).

Foi descrita também associação à alergia ocular, com maior elevação de IgE específica pelo método CAP (imunoensaio fluorimétrico) em um grupo de 40 pacientes portadores de conjuntivite alérgica primaveril, comparando-se a grupo controle composto por 50 não atópicos (MIMURA *et al.*, 2004).

Crianças asmáticas em Ohio, Estados Unidos foram submetidas a RAST para detecção de IgE específica para mariposa e 16 entre 37 destas (43,0%) apresentaram teste positivo. Os autores concluem que uma proporção expressiva de crianças é sensibilizada, porém são necessários mais estudos para verificar se os alérgenos desse inseto podem realmente produzir sintomas clínicos significativos (LIERL; RIORDAN; FISCHER, 1994).

Em 1997, foram realizados testes cutâneos alérgicos por puntura com alérgenos inaláveis em 250 crianças atópicas na cidade de Curitiba e detectou-se que 96 (38,4%) apresentavam reatividade cutânea a extrato da espécie de mariposa

Heterocera sp (Hollister-Stier®). Essa foi a segunda causa em frequência de positividade após a espécie de ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus*, que totalizou 97,5%. Sugere-se que esse alto índice de sensibilização às mariposas merece novos estudos para avaliar a sua frequência, comparando a outros aeroalérgenos já bem determinados e uma melhor avaliação sobre sua relevância clínica (ROSÁRIO; VILELA, 1997), sendo esses os principais objetivos desta dissertação.

1.1 OBJETIVOS

1. Preparar extrato antigênico a partir de asas da mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) e verificar a sua reatividade cutânea por meio de teste cutâneo alérgico (TCA) por puntura em pacientes com diagnóstico de asma e/ou rinite alérgica na cidade de Curitiba;
2. Determinar os níveis séricos de IgE específica à *Bombyx mori* e a outros seis aeroalérgenos pelo método ImmunoCAP® na mesma população;
3. Relacionar as frequências de positividade entre os dois métodos e com variáveis clínicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HIPERSENSIBILIDADE E ATOPIA

As doenças de hipersensibilidade ocorrem quando há um distúrbio na resposta imune, são classificadas de acordo com o tipo da resposta imunológica e do mecanismo efetor responsável pela lesão na célula ou no tecido (MOREIRA, 2006).

Gell e Coombs (1968) propuseram a primeira classificação para as doenças de hipersensibilidade: tipo I, II, III e IV, utilizada até hoje. No entanto, Johansson *et al* (2004) redefiniram hipersensibilidade como a presença de sintomas ou sinais iniciados pela exposição a um estímulo definido em uma dose tolerada por indivíduos normais e sugeriram uma nova classificação, que a divide em alérgica, quando há mecanismos imunológicos envolvidos, ou não alérgica.

Alergias são causadas pela reação imune a proteínas conhecidas como alérgenos, cujas principais fontes incluem ácaros da poeira doméstica, polens de gramíneas e pelos de animais. Os alérgenos causam doença devido à intensidade da reação imune que provocam (COOKSON, 1999). E tal reação pode ser mediada por IgE ou não (JOHANSSON *et al.*, 2004).

A IgE foi descoberta em 1968, ocasião em que se anunciou a presença do quinto isotipo de imunoglobulina (demais são IgA, IgM, IgG, IgD). Já na década de setenta, reações a alérgenos inalantes mediadas por IgE foram denominadas de atópicas. As doenças atópicas incluem asma, rinoconjuntivite, sintomas gastrointestinais e lesões de pele características. Um paciente atópico pode desenvolver a chamada “marcha atópica”, apresentando predominantemente nos primeiros anos de vida sintomas de pele ou gastrointestinais relacionados a alérgenos alimentares. E, mais tardiamente, desenvolver asma e rinite provocada por alérgenos inalantes. Portanto, atopia é definida como uma tendência pessoal ou familiar de produzir anticorpos IgE específicos em resposta a doses baixas de alérgeno e, desta forma, desenvolver sintomas típicos. A presença de anticorpos IgE específicos não significa necessariamente doença clinicamente ativa, mas sim sensibilização a determinado alérgeno (JOHANSSON *et al.*, 2004).

O estado atópico de um indivíduo pode ser reconhecido por teste cutâneo alérgico, presença de IgE alérgeno-específica no soro, elevação de IgE sérica total e presença de eosinofilia no sangue (COOKSON, 1999).

2.2 SENSIBILIZAÇÃO A ALÉRGENOS INALANTES

A sensibilização a alérgenos inalantes é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas como asma e rinite, embora a extensão desse efeito seja amplamente discutida (ARSHAD *et al.*, 2001; CUSTOVIC; SIMPSON, 2004). Com o objetivo de verificar a relevância clínica da sensibilização a alérgenos inalantes na Europa, foram avaliados 3034 indivíduos referidos a qualquer um de 17 centros de Alergia em 14 países diferentes. Foram realizados testes cutâneos alérgicos para os 18 alérgenos locais mais frequentes e avaliação clínica. Em todos os países foi descrita taxa de sensibilização maior ou igual a 60,0% nos pacientes avaliados, embora tenha havido diferenças na distribuição das sensibilizações alérgicas dependendo do país. Os autores concluíram que houve correlação significativa entre a presença de doença alérgica (asma, rinite alérgica, dermatite atópica e alergia alimentar) e o número de sensibilizações (BURBACH *et al.*, 2009).

Em outra publicação desse mesmo estudo, procurou-se descobrir um número mínimo de alérgenos para identificar um paciente como sensibilizado. Encontrou-se que, de uma maneira geral, apenas oito aeroalérgenos testados (pólen de gramíneas, *Dermatophagoides pteronyssinus*, pólen de bétula, pelo de gato, *Artemisia*, pólen de oliveira, *Blatella* e *Alternaria*) permitiram a identificação de mais de 95,0% dos indivíduos sensibilizados (BOUSQUET *et al.*, 2009).

Em revisão sobre a importância dos alérgenos inaláveis feita na cidade de Curitiba, verificou-se que: os ácaros *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis* são os principais alérgenos sensibilizantes em pacientes com alergia respiratória; a doença polínica é causada por pólen de gramíneas e mais frequente em adultos que crianças; outros alérgenos menos prevalentes são os originados de animais e insetos, e em menor frequência os fungos do ar (DUTRA; ROSÁRIO; ZAVADNIAK, 2001).

O conhecimento sobre os aeroalérgenos sensibilizantes e o grau de exposição a eles nos diferentes ambientes são fundamentais para o diagnóstico e tratamento das doenças alérgicas (DUTRA; ROSÁRIO; ZAVADNIAK, 2001). E para a prevenção das alergias, são necessárias intervenções apropriadas às suscetibilidades individuais, levando em conta não somente os aspectos ambientais, mas também a predisposição genética (CUSTOVIC; SIMPSON, 2004).

2.3 ALERGIA INALATÓRIA A INSETOS – O PAPEL DA MARIPOSA

Insetos estão presentes dentro e fora dos domicílios; a quantidade e variedade de espécies pode ter distribuição sazonal de acordo com o clima ou ciclo reprodutivo de cada inseto (PERLMAN, 1958). Reações alérgicas aos insetos podem ser provocadas por secreções como veneno e saliva ou partes do corpo como as asas (PRZYBLLA; EBEN, 2008). Já são bem documentadas as reações a picadas de himenópteros (abelhas, vespas e formigas), provocando desde pequenas irritações na pele até reações sistêmicas (anafilaxia) (HAMILTON, 2010). Com relação à alergia inalatória, o inseto mais estudado tem sido a barata, cuja infestação doméstica é causa de asma e considerada questão de saúde pública nos Estados Unidos da América (ARRUDA *et al.*, 2000). Há poucas e antigas descrições sobre asma e rinite desencadeadas por espécies de moscas e mosquitos como *may fly* e *caddis fly* (FEINBERG; FEINBERG; BENAIM-PINTO, 1956; KINO *et al.*, 1987). Estudo realizado na cidade de São Paulo com 40 pacientes asmáticos apresentou positividade ao TCA com extrato de mosquitos em 32,5% e mariposas em 65,0% dos casos (MENDES; LACAZ, 1965). Sendo o primeiro a documentar o papel da mariposa como alérgeno desencadeante de sintomas respiratórios no Brasil.

2.3.1 Sericicultura

A sericicultura é uma atividade agroindustrial muito antiga, iniciou-se na China há cerca de 5000 anos. Compreende a cultura da amoreira, a criação do bicho-da-

seda e a produção dos fios de seda que são fornecidos para a indústria têxtil (CORRADELO, 1987).

A seda é um filamento de proteína produzido pelas glândulas sericígenas das lagartas do bicho-da-seda, principalmente da espécie *Bombyx mori*. Que pertence ao gênero *Bombyx*, família *Bombycidae*, ordem *Lepidoptera*, classe dos Insetos, filo *Artrópode*, reino *Animal* (FONSECA; FONSECA, 1988).

Responsável pela produção de mais de 95% da seda mundial, a *Bombyx mori* alimenta-se exclusivamente de folhas de amoreira durante sua fase larvar. Ao final de 28 dias, a lagarta produz o casulo, dentro do qual se dá a metamorfose da pupa ou crisálida para o estágio adulto, a mariposa (OKINO, 1982).

Os sericulturistas adquirem os ovos do bicho-da-seda, de onde a larva eclode e inicia seus estágios de maturação. A larva madura produz os casulos, que são selecionados manualmente e enviados para as fábricas de fiação de seda (YOSHIDA, 1994).

Durante o processo de criação do bicho-da-seda, os trabalhadores estão expostos diretamente aos seus antígenos inaláveis, especialmente durante a seleção de casulos (KOBAYASHI, 1970). No entanto, foram detectados alérgenos em: produtos excretados do bicho-da-seda, hemolinfa das crisálidas e poeira das asas das mariposas (KOBAYASHI; NAKASAWA; YOSHIDA, 1972). Portanto, os sericulturistas podem sensibilizar-se em vários estágios de produção da seda.

2.3.2 Alergia à *Bombyx mori* no ambiente ocupacional

Há décadas tem havido descrições de indivíduos que, engajados no processo de produção da seda, desenvolvem asma alérgica. Há estudos japoneses sobre asma ocupacional em sericulturistas (INASAWA; HORIKOSHI; TOMIOKA, 1973; TADANI; TOMIOKA; FURUKAWA, 1974), além de rinite e conjuntivite alérgicas nestes trabalhadores (KOBAYASHI, 1974).

Operários de fábricas de fiação de seda na Índia foram submetidos à avaliação clínica, testes cutâneos alérgicos por puntura e RAST com antígenos de casulos e pupas do bicho-da-seda. De um total de 243 trabalhadores, 36,0% foram diagnosticados como asmáticos e destes, 16,9% não tinham sintomas clínicos

quando afastados do trabalho por um período prolongado, portanto considerada asma ocupacional. Estes apresentaram positividade aos extratos alergênicos testados em 70,0% dos casos. Houve correlação entre os resultados dos testes cutâneos e RAST sérico para casulos e pupas em 86,0% e 80,0% respectivamente (HARINDRANATH; PRAKASH; SUBBA RAO, 1985).

Nakazawa e Umegae (1990) realizaram provocação brônquica com antígenos do bicho-da-seda em uma trabalhadora da indústria da seda que tinha diagnóstico de pneumonite por hipersensibilidade e obtiveram resposta positiva. Os autores sugerem que esta doença deveria ser denominada de pulmão do sericulturista.

Médicos do trabalho no Sri Lanka revelaram que, de 53 trabalhadoras com média de trabalho de 5,8 anos na indústria da seda, 18 (33,9%) tinham asma ocupacional. Os sintomas respiratórios ocorriam dentro de 30 minutos a 6 horas após o início do trabalho e melhoravam dentro de 1 a 8 horas após deixarem a fábrica (URAGODA; WIJEKOON, 1991).

Em estudo chinês, verificou-se que 68 de 90 sericultores apresentavam sintomas de alergia respiratória e 14 tinham diagnóstico de asma ocupacional. Os alérgenos relacionados foram provenientes de casulos e urina do bicho-da-seda e excreções e escamas das asas das mariposas (WANG; ZHENG; ZHANG, 1994).

Verificou-se da mesma forma, alergia respiratória ocupacional (asma e rinoconjuntivite) em um padeiro, provocada por outra espécie deste inseto *Ephestia kuehniella*, chamada mariposa da farinha (MAKINEN-KILJUNEN *et al.*, 2001).

2.3.3 Alergia à *Bombyx mori* na exposição ambiental

Não somente o contato com antígenos no local de trabalho, mas também a exposição ambiental à mariposa comprovou-se relevante clinicamente em pacientes com diagnóstico de doenças alérgicas respiratórias (KINO; OSHIMA, 1978; KINO; OSHIMA, 1979). Na TABELA 1 estão resumidos, em ordem cronológica, os estudos encontrados sobre frequência de sensibilização à mariposa por diferentes métodos em diversas localidades.

TABELA 1 – ESTUDOS SOBRE FREQUÊNCIA DE SENSIBILIZAÇÃO À MARIPOSA

Local	Ano	Autores	Método	População (n)	Frequência de positividade (%)
Japão	1978	Kino e Oshima	TCA	66	56,0
Japão	1978	Kino e Oshima	RAST	66	30,3
EUA	1988	Wynn <i>et al</i>	TCA	257	45,0
Japão	1990	Ogino <i>et al</i>	TCA	80	22,5
EUA	1994	Lirl, Riordan e Fischer	RAST	37	43,2
Japão	1995	Suzuki <i>et al</i>	CAP	267	32,1
Brasil	1997	Rosário	TCA	250	38,4
Japão	1997	Komase <i>et al</i>	CAP	51	59,0
Japão	2002	Okuda <i>et al</i>	RAST	560	32,5

FONTE: O autor (2013)

Com o objetivo de verificar as concentrações de antígenos de mariposa na cidade de Minnesota, Winn *et al* (1988) analisaram amostras de poeira em ambiente externo (não domiciliar) durante um período de 3 anos. Verificou-se por meio radioimunoensaio níveis comparáveis aos de alérgenos de polens e encontrou-se índices mais altos em determinados meses do ano. Os autores concluem que a mariposa representa importante alérgeno sazonal nos EUA (Estados Unidos da América).

Neste mesmo estudo, foram realizados testes cutâneos com extratos de mariposa em 257 pacientes sensibilizados a aeroalérgenos comuns e houve 45,0% de reatividade nesta população (WYNN *et al.*, 1988).

Em imunoensaio realizado a partir da poeira doméstica, Kino *et al* (1987) revelaram presença de aeroalérgenos de três espécies de insetos (incluindo a mariposa do bicho-da-seda) em suspensão no ar e perceberam que pode haver flutuações nas suas concentrações durante o ano. Concluíram, portanto, que os insetos são alérgenos inalantes comuns e podem ter variação sazonal.

Alta taxa de sensibilidade à mariposa foi detectada por Kino e Oshima (1978) durante avaliação de 66 pacientes asmáticos selecionados aleatoriamente. Destes, 37 (56,0%) apresentaram teste cutâneo alérgico intradérmico positivo ao extrato de mariposa e 20 (30,3%) obtiveram positividade à IgE específica (RAST) no soro para mariposa. Conclui-se que são insetos prontamente atraídos por luzes artificiais e que frequentemente voam para o interior das residências, portanto podem ser fatores causais importantes de asma.

Cinquenta asmáticos sem história de exposição ocupacional foram submetidos a testes cutâneos e dosagem de IgE específica sérica com extratos provenientes das asas e do corpo da mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*). Houve reatividade cutânea em 68,0% e 56,0% dos pacientes respectivamente e positividade ao RAST em 44,0% e 22,0% dos casos respectivamente. Sugerindo que os componentes das asas da mariposa do bicho-da-seda são os sensibilizantes principais. Demonstrou-se ainda por meio de testes de inibição que há reação cruzada entre alérgenos de borboleta e mariposa (KINO; OSHIMA, 1979).

Em outro estudo realizado no Japão, mensurou-se IgE específica para *Bombyx mori* e uma espécie de mosquito (*Chironomus yoshimatsui*) pelo método CAP no soro de 51 asmáticos alérgicos a ácaros, nenhum dos quais relatavam exposição prévia a esses insetos ou evidência aparente de asma relacionada aos mesmos. No entanto, 30 (59,0%) desses pacientes apresentavam positividade aos testes para mariposa e 25 (49,0%) para mosquito. E foi demonstrado por meio de ensaio de inibição que há reação cruzada entre eles (KOMASE *et al.*, 1997).

Com o objetivo de verificar a importância dos insetos como alérgenos causadores de rinite alérgica, foram feitos testes cutâneos intradérmicos com extrato de mariposa do bicho-da-seda em 80 pacientes dos quais 18 (22,5%) apresentaram positividade. Avaliaram-se ainda, estudantes de medicina voluntários, que foram divididos em dois grupos: um com sintomas nasais e outro assintomático. De um total de 26 do primeiro grupo, 5 (19,2%) tinham testes alérgicos positivos para mariposa e dos 48 pertencentes ao segundo grupo, 6 (12,5%) apresentaram reatividade cutânea. Sugeriu-se que as mariposas são alérgenos relativamente comuns e podem ser responsáveis por rinite alérgica (OGINO *et al.*, 1990).

Suzuki *et al* (1995) dosaram IgE específica para mariposa do bicho-da-seda, entre outros aeroalérgenos comuns, pelo método CAP em 267 pacientes diagnosticados com rinite alérgica e detectaram positividade em um terço deles. Mostraram que este alérgeno apresentou a terceira mais alta taxa de reatividade, após polens e ácaros. Resultados esses, que comprovam a relevância do antígeno de *Bombyx mori* como causador de rinite alérgica no Japão.

Para esclarecer o papel dos insetos como desencadeantes de rinite alérgica, foram mensuradas IgEs específicas para mariposa, mosquito e barata por RAST no soro de 560 pacientes com esse diagnóstico. Obtiveram-se as seguintes frequências de positividade respectivamente: 32,5%, 16,1% e 13,4%. Nos indivíduos em que os

valores de RAST foram mais elevados (classe três ou quatro), a provocação nasal com antígenos de mariposa foi positiva em 61,5%. Comprovou-se forte correlação entre os títulos de IgE específica para mariposa e mosquito, mas não entre os demais. Demonstrando novamente que as mariposas são alérgenos inalantes que provocam rinite alérgica no Japão (OKUDA *et al.*, 2002).

Além dos relatos da associação de alergia à mariposa com asma e rinite, comprovou-se uma maior elevação de IgE específica sérica por meio de RAST em 40 pacientes com conjuntivite alérgica primaveril comparada a um grupo controle composto por 50 não atópicos (MIMURA *et al.*, 2004).

Há relatos de reações alérgicas e irritativas na pele de marinheiros após contato com mariposas do gênero *Hylesia*. Foram atraídas facilmente pela luz artificial dos navios e partes dos corpos das mariposas mortas provocaram erupção pruriginosa em 34 dos 35 trabalhadores a bordo (DINEHART *et al.*, 1985). Em 1990, 141 habitantes de um abrigo público em Singapura apresentaram urticária papular provocada por mariposas (OOI *et al.*, 1991).

Crianças asmáticas em Ohio, EUA foram submetidas ao RAST para detecção de IgE específica para mariposa, entre outros insetos. De um total de 37, 16 (43,2%) apresentaram resultado positivo. No entanto, os autores concluem que são necessários mais estudos para verificar se os alérgenos desses insetos podem produzir sintomas clinicamente significativos em indivíduos atópicos sensibilizados (LIERL; RIORDAN; FISCHER, 1994).

Em 1997, Rosário realizou testes cutâneos alérgicos em 250 crianças atópicas na cidade de Curitiba e detectou que 96 (38,4%) apresentavam positividade ao extrato de mariposa (1:20 peso/volume *Heterocera*). Foi a causa mais frequente entre os inalantes após o ácaro da espécie *Dermatophagoides pteronyssinus*, que totalizou 97,5% de testes positivos. O autor sugere que o alto índice de sensibilização à mariposa requer uma melhor avaliação sobre sua relevância clínica, já documentada desde a década de 70 no Japão (ROSÁRIO, 1997).

2.4 DETERMINAÇÃO DE IgE ESPECÍFICA PARA *Bombyx mori in vivo* POR MEIO DE TCA POR PUNTURA

Os testes cutâneos alérgicos são amplamente utilizados para demonstrar reações alérgicas mediadas por IgE e representam a principal ferramenta diagnóstica no campo da alergia. Além disso, contemplam alto grau de correlação com os sintomas e apresentam alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de alergia a inalantes (BOUSQUET *et al.*, 2012).

O procedimento emprega uma pequena quantidade de extrato alergênico que é injetada na epiderme. Caso o paciente seja sensível ao alérgeno testado, ocorre ligação entre o antígeno e a IgE específica acoplada aos receptores de alta afinidade dos mastócitos presentes na pele do indivíduo, resultando na liberação de histamina e outros mediadores inflamatórios. Em conjunto com reflexos neuronais, esses mediadores levam à formação de uma reação constituída por uma pápula, circundada por um eritema após 15 a 20 minutos (BOUSQUET, 1993).

Trata-se, portanto de um método efetivo, simples e rápido para detecção de IgE específica *in vivo* ao alérgeno testado (SMITH, 1992).

A resposta ao TCA pode ser quantificada pelos diâmetros da pápula e do eritema (OWNBY, 1988). Os resultados são comparáveis aos obtidos pela detecção de IgE específica sérica *in vitro* (OWNBY, 1988; ROSÁRIO; VILELA, 1997).

Rosário e Vilela destacaram que são testes úteis para o diagnóstico e quantificação da atopia e, em virtude da facilidade e rapidez na obtenção dos resultados, devem ser os métodos de escolha para avaliação de indivíduos atópicos (ROSÁRIO; VILELA, 1997).

Tanto a Academia Americana quanto a Européia de Alergia e Imunologia recomendam os testes cutâneos alérgicos para diagnóstico de doenças alérgicas mediadas por IgE (AMERICAN ACADEMY OF ASTHMA, ALLERGY AND IMMUNOLOGY, 1992; EUROPEAN ACADEMY OF ALLERGOLOGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, 1993).

2.5 DETERMINAÇÃO DE IgE ESPECÍFICA PARA MARIPOSA *in vitro* POR MEIO DE IMMUNOCAP®

Ensaio para detecção de IgE específica sérica são meios objetivos de identificar alergias específicas em diferentes indivíduos, que combinados à história clínica e exame físico são capazes de estabelecer o diagnóstico de doenças alérgicas (AHLSTEDT, 2002).

Em 1967, Ishizaka *et al* detectaram IgE específica no soro de pacientes com mieloma (ISHISAKA; ISHISAKA; HORN BROOK, 1967). Com isso, foi possível definir a estrutura da IgE e criar o teste de radioimunoensaio ou RAST (WIDE; BENNICH; JOHANSSON, 1967). Esse teste tem sido amplamente utilizado para mensurar IgE específica a alérgenos (YUNGINGER *et al.*, 2000).

Inicialmente a técnica do RAST apresentava baixa sensibilidade e especificidade quando comparada ao teste cutâneo alérgico. Em 1992, Williams *et al* introduziram uma fase sólida de alta capacidade de absorção denominada imunoensaio enzimático fluorimétrico ou CAP, que tem facilitado a detecção de alérgenos com base na ligação de IgE.

O teste de ImmunoCAP® (Pharmacia Diagnostics) é atualmente considerado padrão para detecção de IgE específica *in vitro*, demonstrando performance reprodutível, porém mais precisa que os demais métodos disponíveis. Tem-se mostrado uma ferramenta confiável para o diagnóstico de sensibilização alérgica, particularmente útil quando os testes *in vivo* não estão disponíveis (JOHANSSON, 2004).

Os níveis de IgE específica para alimentos por meio do método ImmunoCAP® servem como pontos de decisão no diagnóstico da alergia alimentar, além de predizerem tolerância a leite e ovo. Com o objetivo de determinar se os níveis de IgE derivados de diferentes ensaios são comparáveis aos do ImmunoCAP®, foram realizadas dosagens de IgE específica para alimentos e aeroalérgenos em 50 crianças alérgicas. Comprovou-se que há discrepâncias entre os resultados dos três métodos analisados (ImmunoCAP®, Turbo-MP® e Immulite®). Portanto, os níveis determinados pelo ImmunoCAP® não devem ser aplicados aos resultados de outros ensaios (WANG; GODBOLD; SAMPSON, 2008).

Simpson *et al* (2005) investigaram associação entre sibilância, função pulmonar e níveis de IgE específica sérica para ácaro, cão e gato por ImmunoCAP® em uma coorte composta por 521 crianças desde o nascimento até os 5 anos de idade. Os autores concluíram que a probabilidade de sibilância e deterioração da função pulmonar aumentou conforme aumentaram os níveis de IgE específica para os alérgenos testados por esse método.

A aquisição de resultados confiáveis e precisos de anticorpos IgE específicos é imprescindível para identificar os agentes causais nas doenças alérgicas. Essas dosagens, associadas à história clínica e exame físico, são utilizadas para estabelecer o diagnóstico das doenças alérgicas e conseqüentemente interferem nas decisões terapêuticas (WILLIAMS *et al.*, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO E LOCAL DO ESTUDO

Trata-se de um estudo analítico transversal. A pesquisa foi desenvolvida no ambulatório de Alergologia e Pneumologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR) no período compreendido entre março e agosto de 2010.

3.2 CASUÍSTICA

Pacientes em acompanhamento no ambulatório de Alergologia e Pneumologia Pediátrica do HC-UFPR, que atende aproximadamente 400 pacientes por mês, constituíram a casuística deste estudo.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Escolares e adolescentes de ambos os sexos, com diagnóstico de asma e/ou rinite alérgicas, acompanhados no ambulatório de Alergologia e Pneumologia Pediátrica do HC-UFPR. Foram considerados alérgicos, os que apresentaram positividade ao TCA para pelo menos um dos seguintes antígenos: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Lolium multiflorum*, epitélio de cão ou epitélio de gato.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos aqueles que não preenchiam os critérios de inclusão e cujas amostras de soro foram insuficientes para realizar a detecção completa das IgEs específicas pelo método ImmunoCAP®.

3.5 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão, a população do estudo se constituiu de 120 pacientes.

3.6 AMOSTRA E TÉCNICA DE AMOSTRAGEM

Foram selecionados, sempre com a presença da pesquisadora, 101 pacientes por amostragem não probabilística de conveniência. Destes, dois casos foram posteriormente excluídos por insuficiência de soro para realização das IgEs específicas pelo ImmunoCAP®.

3.7 PROCEDIMENTOS DA PESQUISA

3.7.1 Dados clínicos e epidemiológicos

A partir da inclusão do paciente no estudo, foi realizado levantamento dos seguintes dados de prontuário: nome, sexo, data de nascimento, idade, procedência, diagnóstico das doenças alérgicas (incluindo a classificação de gravidade dos sintomas), história familiar de atopia, tabagismo e presença de animais no domicílio.

O diagnóstico de asma intermitente, leve persistente, moderada persistente ou grave persistente seguiu critérios clínicos referentes à primeira consulta descrita no prontuário conforme a classificação proposta pelo *GINA – Global Initiative for Asthma* (2006).

A classificação da rinite em intermitente ou persistente, de acordo com a frequência dos sintomas e leve ou moderada/grave, conforme a morbidade dos sintomas foi feita segundo recomendações do *ARIA – Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma* (BOUSQUET *et al.*, 2008). A partir de dados do prontuário referentes à primeira consulta no ambulatório.

3.7.2 Preparo do extrato alergênico de *Bombyx mori*

Os casulos de bicho-da-seda da espécie *Bombyx mori* foram coletados da indústria de fiação de seda Bratac e transportados em local seco e fresco de Londrina a Curitiba. Foram armazenados em caixa acrílica até a eclosão das pupas em mariposas no HC-UFPR, setor de Alergia Pediátrica. Foram dissecadas e removidas as suas asas, pois é onde se localizam seus principais antígenos (KINO; OSHIMA, 1979) e, a partir das quais foi preparado o extrato alergênico.

O meio para padronização do preparo de alérgenos utilizado foi o sistema peso/volume, no qual se extrai um peso conhecido em um volume especificado de fluido. A solução resultante pode ser concentrada ou diluída quando necessário (PATTERSON; GRAMMER; GREENBERGER, 1997). O método escolhido foi o descrito por Lierl, Riordan e Fischer (1994), obedecendo os seguintes passos:

- 1) O material proveniente do inseto foi macerado com um pilão em um gral de cerâmica e o conteúdo foi desengordurado com éter seco;
- 2) A medida aproximada de 2g das partículas do inseto foi colocada em 20mL de solução tampão estéril fria (PBS), misturada por seis minutos e mantida em repouso (refrigerada a 4°C) por 48 horas;
- 3) Para a extração do antígeno, a mistura foi centrifugada por 15 minutos a 12.000 rotações por minuto;
- 4) O sobrenadante foi filtrado com filtros esterilizados de poliestersulfona (PES) contendo poros com diâmetros de 0,2µm;

- 5) Feitas provas bacteriológicas para garantir a esterilidade da solução;
- 6) O filtrado foi diluído em glicerina 50,0%, com concentração final a 1:20 peso/volume;
- 7) O extrato alergênico foi acondicionado em frascos com conta-gotas a 4°C até o momento do uso nos testes cutâneos por puntura.

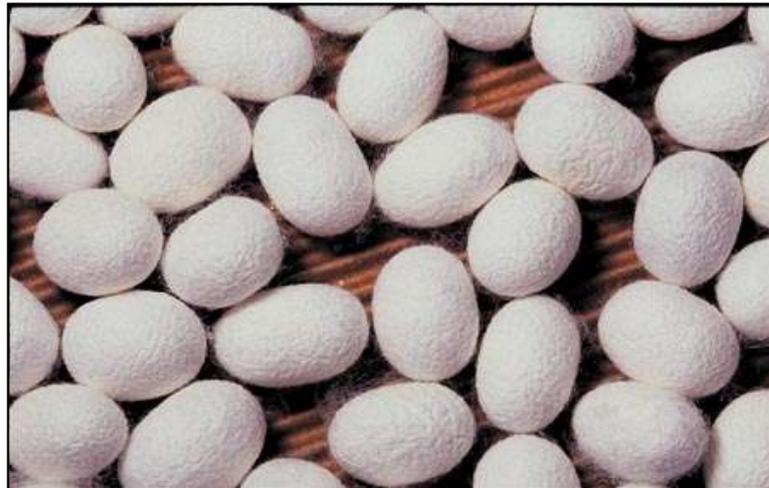


FIGURA 1 – CASULOS DO BICHO-DA-SEDA
FONTE: INDÚSTRIA DE FIAÇÃO DE SEDA BRATAC



FIGURA 2 – MARIPOSAS DA ESPÉCIE *BOMBYX MORI*
FONTE: O Autor (2010)

3.7.3 Testes cutâneos alérgicos por puntura

Os pacientes selecionados foram submetidos a TCA por puntura com extrato alergênico confeccionado de *Bombyx mori*. Obedecendo à seguinte técnica: cada paciente foi colocado em posição confortável, realizada assepsia da superfície volar do antebraço direito com álcool etílico a 70,0%, em seguida aplicada uma gota do extrato na pele e o local marcado com caneta marcadora de pele. O controle positivo foi realizado com histamina na concentração de 10mg/mL (IPI/ASAC, Brasil) e o negativo com solução salina/glicerol a 50,0% (IPI/ASAC, Brasil) com intervalo de 3 cm de distância entre eles. Utilizou-se técnica de puntura com agulha estéril de 27 mm superficialmente na pele, em ângulo de 20°.

Após 15 minutos, procedeu-se à leitura da reação com auxílio de régua milimetrada, considerado teste positivo quando a média entre os dois diâmetros perpendiculares da pápula foi maior ou igual a 3 mm (NELSON, 2011).

Nenhum dos pacientes estava em uso de antihistamínicos ou outras medicações que pudessem interferir no resultado do TCA na semana que antecedeu a sua realização.

3.7.4 Coleta de sangue venoso

Na mesma ocasião da realização dos testes cutâneos alérgicos, foram coletados 5 mL de sangue de todos os participantes por venopunção na região do antebraço e acondicionados em frascos de coleta para exame hematológico. Após a formação do coágulo, os tubos foram centrifugados a 2000 rotações por minuto por 10 minutos, os soros obtidos foram aliquotados em tubos *ependorf*® e armazenados em freezer a -80°C até se proceder à análise das IgEs pelo método ImmunoCAP®.

3.7.5 Detecção de IgE sérica total e específica pelo método ImmunoCAP®

Foi utilizado o método ImmunoCAP® para detecção de IgE total e dos seguintes anticorpos IgE específicos séricos: *Bombyx mori*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, epitélio de cão e epitélio de gato nos 99 indivíduos selecionados para o estudo. Segundo a técnica de fluoroenzimaimunoensaio (FEIA) da Phadia® 100. Em que o alérgeno suspeito foi acoplado à fase sólida do ImmunoCAP® por ligação covalente e reagiu com os anticorpos IgE específicos contidos na amostra de soro dos pacientes. Em seguida, os anticorpos não-específicos foram eliminados através de lavagem e foram adicionados anticorpos anti-IgE ligados à enzima β -galactosidase. Após a incubação, os anticorpos (anti-IgE-enzima) não ligados, foram eliminados por novo processo de lavagem. O substrato da enzima, contido na solução reveladora (*development*), foi adicionado ao meio reacional e aguardou-se mais um período de incubação. Em seguida, a reação foi interrompida pela adição de solução *stop* e foi medida a fluorescência.

Quanto mais elevado o valor da fluorescência, mais elevada a quantidade de IgE específica daquela amostra. Para se quantificar a IgE específica presente nos soros, foram medidos os resultados de fluorescência em unidades de resposta e comparados aos obtidos pelos calibradores para tornar as análises mais fidedignas.

Foram utilizadas curvas de calibração com seis pontos calibradores, ou seja, seis amostras cujos valores de concentração eram conhecidos e crescentes. As quais foram submetidas às mesmas etapas de reação e tempos de incubação que as amostras de concentração desconhecida (pacientes) e realizadas em duplicata (PRINCÍPIO, 2012).

A padronização dos soros calibradores de IgE foi realizada através de alinhamento com as Preparações de Referência Internacional da Organização Mundial da Saúde 75/502.

A concentração de IgE total foi expressa em kU/L e para as IgEs específicas em kUA/L. Foram considerados positivos, os valores acima de 0,7kUA/L.

3.7.6 Coleta e registro de dados

Avaliação clínica, realização de TCA por puntura e coleta de sangue venoso foram realizados pela pesquisadora responsável no momento da seleção e após anuência dos pais, durante consulta de seguimento dos pacientes no ambulatório.

Os dados clínicos, juntamente com os resultados dos testes cutâneos e das IgEs específicas séricas pelo ImmunoCAP®, foram compilados em ficha clínica, registrados em planilha eletrônica (*Microsoft Excel®*), conferidos e exportados para posterior análise estatística (*Statistica-Statsoft®*).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As medidas de tendência central e de dispersão estão expressas em médias e desvio padrão para as variáveis contínuas de distribuição simétrica e em medianas, valores mínimo e máximo (mediana, mínimo – máximo) para as de distribuição assimétrica.

A estimativa da diferença de variáveis contínuas de distribuição normal foi realizada pelo teste paramétrico t de *Student* e para variáveis de distribuição assimétrica, o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

A estimativa de diferença entre variáveis categóricas foi realizada pelos testes exato de Fisher e qui-quadrado de Pearson.

O modelo de regressão logística univariada foi utilizado para estimar a probabilidade de positividade dos testes cutâneos de acordo com os níveis de IgE específica sérica.

Curvas ROC foram construídas para estimar os pontos de corte de maior sensibilidade e especificidade para a ocorrência de asma, rinite alérgica e de positividade ao TCA para *Bombyx mori*.

Para todos os testes foi considerado um nível mínimo de significância de 5% e poder de teste mínimo de 85%.

3.9 ÉTICA EM PESQUISA

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR em 30 de março de 2010, sob registro 2155.050/2010-03 (ANEXO 1) conforme as normas da resolução 196/96. O estudo foi iniciado após anuência dos pais ou responsáveis mediante leitura e assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE 1) e os participantes maiores de 12 anos, termo de assentimento (APÊNDICE 2). Sendo integralmente esclarecidos sobre os critérios e objetivos do estudo.

3.10 FOMENTO PARA PESQUISA

A pesquisa teve apoio financeiro do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da UFPR para a compra dos reagentes utilizados nas análises de IgEs específicas pelo método ImmunoCAP®.

A pesquisa foi conduzida na UFPR e obteve fomento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, com concessão de bolsa de estudo à pesquisadora.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA DE ESTUDO

A amostra do grupo de estudo foi constituída por 99 pacientes com diagnóstico de asma e/ou rinite, que foram submetidos ao TCA por punção e à análise de IgE específica por ImmunoCAP®. Na TABELA 2 são apresentados os dados clínicos e epidemiológicos destes pacientes.

TABELA 2 – DADOS CLÍNICOS E EPIDEMIOLÓGICOS (n 99)

CARACTERÍSTICAS	n (%)
Idade (anos)	10,4 (\pm 2,2)*
Sexo (masculino:feminino)	61:38 (61,6:38,4)
Asma	87 (87,9)
Intermitente/Leve	31 (35,6)
Moderada	46 (52,9)
Grave	10 (11,5)
Rinite	95 (95,9)
Leve	24 (25,3)
Moderada/Grave	71 (74,7)
Sintomas oculares	66 (66,7)
Dermatite atópica	9 (9,1)
Urticária	6 (6,1)
História familiar de atopia	66 (66,7)
Animais estimação	66 (66,7)

* Expressa em média (desvio padrão)

FONTE: O autor (2012)

A média de idade dos pacientes foi de $10,4 \pm 2,2$ anos, variando de 6,0 a 15,0 anos (IC 95% = 9,9 – 10,8), sendo 61 (61,6%) do sexo masculino.

Sessenta e cinco pacientes eram provenientes de Curitiba (65,6%) e 34 da Região Metropolitana de Curitiba (34,3%).

Oitenta e sete pacientes apresentavam asma (87,9%) e 95 (95,9%) rinite alérgica. Doze (12,1%) apresentavam somente rinite e 04 (4,0%) somente asma.

Entre os pacientes com asma, 31 (35,6%) foram classificados com a forma intermitente ou leve persistente, 46 (52,9%) moderada persistente e 10 (11,5%) grave persistente. Para fins de análise estatística, optou-se por dividir, de forma arbitrária, os pacientes com asma em três grupos: asma intermitente ou leve persistente, asma moderada persistente e asma grave persistente.

Entre os pacientes com rinite alérgica, 24 (25,3%) apresentavam a forma leve (rinite intermitente ou persistente leve) e 71 (74,7%) persistente moderada/grave.

Sintomas oculares (prurido ocular, lacrimação, hiperemia conjuntival ou congestão) foram relatados por 66,7% dos pacientes. Entre as outras doenças alérgicas, dermatite atópica foi diagnosticada em 09 (9,1%) pacientes e urticária em 06 (6,1%).

Em 66 (66,7%) pacientes a história familiar era positiva para atopia (um dos pais e/ou irmãos com diagnóstico de doença alérgica). Em 35 (35,3%) casos havia história de tabagismo no domicílio. Animais domésticos estavam presentes no domicílio em 66 casos (66,7%), sendo cão em 66 casos (66,7%) e gato em 09 casos (9,1%).

As frequências de positividade pelo TCA aos seguintes alérgenos: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Lolium multiflorum*, epitélio de cão, epitélio de gato e *Bombyx mori* estão apresentadas na TABELA 3 (considerados positivos quando a média dos maiores diâmetros era \geq 3mm).

Os ácaros da poeira foram os predominantes, sendo 82 (82,8%) pacientes sensibilizados ao *Dermatophagoides pteronyssinus* e 69 (69,7%) à *Blomia tropicalis*. A espécie de mariposa do bicho-da-seda *Bombyx mori* foi o terceiro alérgeno em frequência de positividade, totalizando 52,5% de pacientes sensíveis. Seguido de: barata (*Blattella germanica*), epitélio cão, pólen do azevém (*Lolium multiflorum*) e epitélio de gato com 17,2%; 16,2%; 15,1% e 12,1% de testes positivos respectivamente.

TABELA 3 – FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE AO TCA COM
DIFERENTES ALÉRGENOS (n 99)

ALÉRGENOS	n (%)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	82 (82,8)
<i>Blomia tropicalis</i>	69 (69,7)
<i>Bombyx mori</i>	52 (52,5)
<i>Blattella germanica</i>	17 (17,2)
Epitélio cão	16 (16,2)
<i>Lolium multiflorum</i>	15 (15,1)
Epitélio gato	12 (12,1)

FONTE: O autor (2013)

Foram avaliadas as frequências de positividade ao ImmunoCAP® (valor de corte 0,7 kUA/L), assim como os valores de IgE específica e total (TABELA 4). Os mais frequentes e que apresentaram maiores níveis de IgEs específicas foram os ácaros. *Blomia tropicalis* foi o alérgeno mais encontrado (88,9%), seguido dos ácaros do gênero *Dermatophagoides* (*Dermatophagoides pteronyssinus* 86,7% e *Dermatophagoides farinae* 85,8%). O segundo em frequência após os ácaros da poeira foi o alérgeno da mariposa (*Bombyx mori*), com 60 (60,6%) pacientes sensibilizados. Seguido de barata (*Blattella germanica*), epitélio de cão e de gato com os seguintes índices de positividade: 47,5%; 22,2% e 16,2%.

TABELA 4 – FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE ÀS IgEs ESPECÍFICAS PELO IMMUNOCAP®
(>0,7 kUA/L) E NÍVEIS SÉRICOS DE IgEs ESPECÍFICAS E TOTAL (n 99)

ALÉRGENOS/IgE TOTAL	n (%)	MEDIANAS (MIN-MAX) kUA/L
<i>Blomia tropicalis</i>	88 (88,9)	17,7 (0 – >100,0)
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	86 (86,7)	82,4 (0 – >100,0)
<i>Dermatophagoides farinae</i>	85 (85,8)	46,2 (0 – >100,0)
<i>Bombyx mori</i>	60 (60,6)	1,1 (0 – >100,0)
<i>Blattella germanica</i>	47 (47,5)	0,6 (0 – 52,4)
Epitélio cão	22 (22,2)	0,2 (0 – 31,5)
Epitélio gato	16 (16,2)	0,0 (0 – 71,3)
IgE total (kU/L)	-	883,0 (73,9 – >5000,0)

FONTE: O autor (2013)

A mediana dos níveis de IgE total foi 883,0 kU/L, variando de 73,9 a >5000,0, considerados valores elevados. As medianas dos níveis de IgE específica para *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis* foram respectivamente: 82,4 kUA/L, 46,2 kUA/L e 17,7 kUA/L. A mediana encontrada para *Bombyx mori* foi de 1,1 kUA/L, com valores entre 0 e >100,0 kUA/L (TABELA 4).

Os níveis de IgE específica para *Bombyx mori* divididos em classes conforme referência do ImmunoCAP®: classe 0 (<0,35 kUA/L), classe 1 (0,35-0,69 kUA/L), classe 2 (0,7-3,49 kUA/L), classe 3 (3,5-17,49 kUA/L), classe 4 (17,5-49,9 kUA/L), classe 5 (50-99,9 kUA/L) e classe 6 ($\geq 100,0$ kUA/L) estão ilustrados no GRÁFICO 1. As classes 0 e 1 foram consideradas negativas e somaram 39 pacientes. Entre os participantes com resultados positivos, houve predomínio das classes 2 e 3 (total de 47), as classes 4 e 5 foram compostas por 6 pacientes cada e apenas 1 obteve valores $\geq 100,0$ kUA/L, correspondente à classe 6.

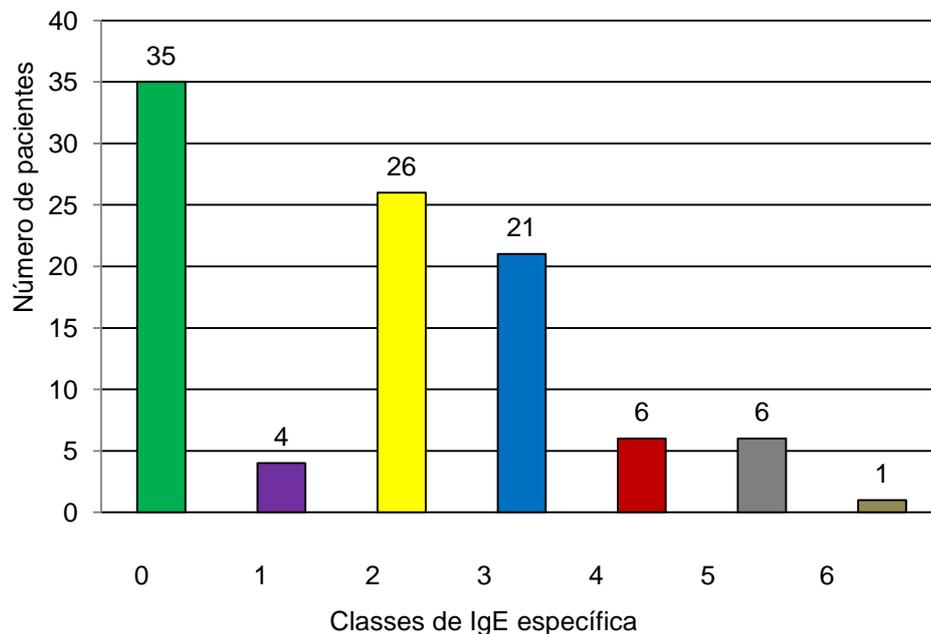


GRÁFICO 1 - NÚMERO DE PACIENTES DE ACORDO COM AS CLASSES DE IgE ESPECÍFICA PARA *Bombyx mori* (n 99)

4.2 RELAÇÃO ENTRE DOSAGENS DE IgEs ESPECÍFICAS SÉRICAS E TESTES CUTÂNEOS

Análise de regressão logística univariada mostrou que houve relação entre a positividade aos testes cutâneos para *Bombyx mori* e os níveis séricos de anticorpos IgE específicos para *Bombyx mori* ($p=0,006$). Valores de IgE específica para *Bombyx mori* de 50 kUA/L (classe 5) estão relacionados à probabilidade de mais de 80% de TCA positivo para este alérgeno (GRÁFICO 2).

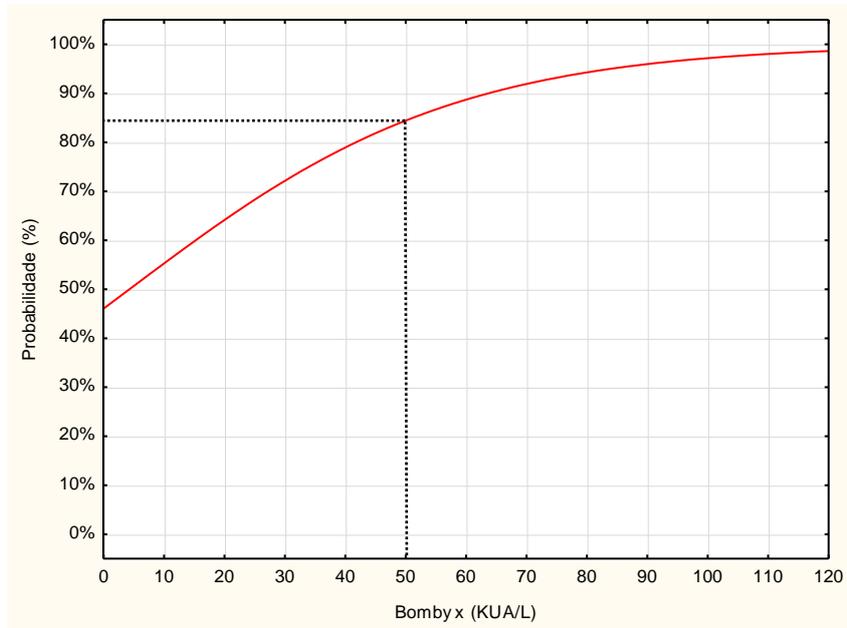


GRÁFICO 2 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA *Bombyx mori* DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA *Bombyx mori* (n 99)

NOTA: Regressão logística univariada: $p = 0,006$

FONTE: O autor (2013)

Da mesma maneira, foi analisada a probabilidade de positividade do TCA de acordo com os níveis séricos de IgE específica para os seguintes alérgenos: *Dermatophagoides pteronyssinus* ($p<0,001$) (APÊNDICE 3), *Blomia tropicalis* ($p=0,04$) (APÊNDICE 4), *Blattella germanica* ($p=0,01$) (APÊNDICE 5), epitélio de cão

($p=0,02$) (APÊNDICE 6) e epitélio de gato ($p=0,03$) (APÊNDICE 7). Todos apresentaram correspondência entre os testes cutâneos e suas respectivas IgEs específicas séricas.

4.3 RELAÇÃO ENTRE TCA PARA *Bombyx mori* E VARIÁVEIS CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS

Cinquenta e dois pacientes (52,5%) apresentaram TCA positivo para *Bombyx mori*. Analisou-se associação entre a sua positividade e variáveis clínicas e epidemiológicas.

Entre os pacientes com rinite alérgica, 54,7% apresentaram TCA positivo para *Bombyx mori*. Foi encontrada associação entre a positividade do TCA para *Bombyx mori* e a presença de rinite alérgica ($p=0,04$) (GRÁFICO 3).

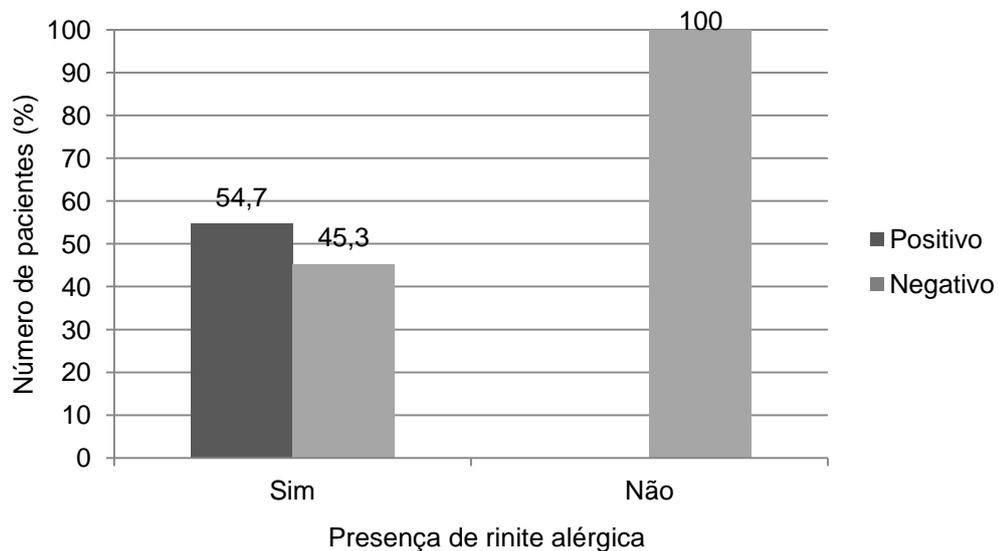


GRÁFICO 3 – FREQUÊNCIA DE REATIVIDADE AO TCA PARA *Bombyx mori* E PRESENÇA DE RINITE ALÉRGICA (n 99)

NOTA: Teste exato de Fisher: $p = 0,04$

FONTE: O autor (2013)

No entanto não se observou diferença significativa na frequência de positividade do TCA para *Bombyx mori* nas diferentes formas de rinite ($p = 0,37$) (GRÁFICO 4).

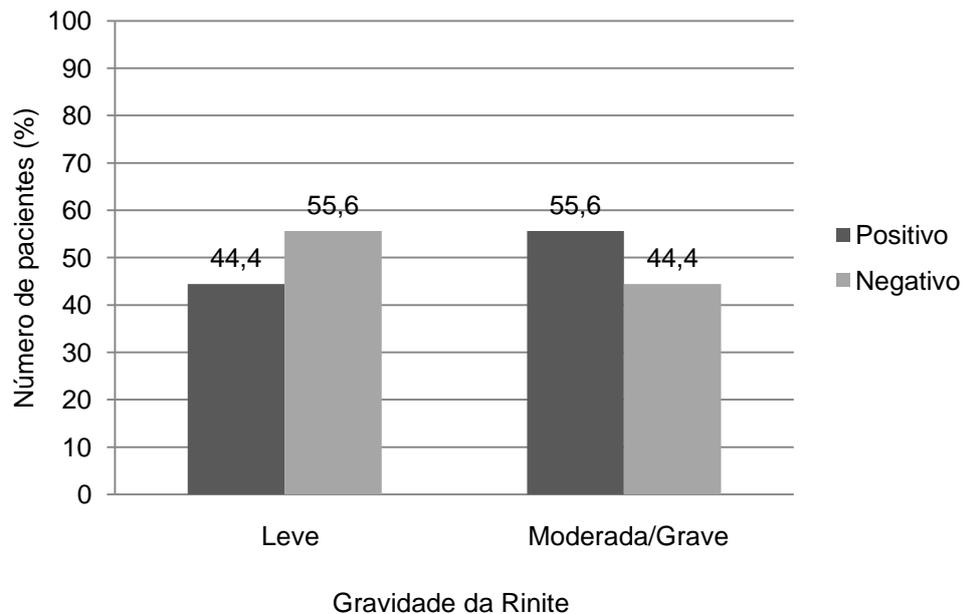


GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA QUANTO À POSITIVIDADE DO TCA PARA *Bombyx mori* DE ACORDO COM A GRAVIDADE DA RINITE (n 99)

NOTA: Teste exato de Fisher: $p = 0,37$

FONTE: O autor (2013)

Não houve associação entre a positividade ao TCA para *Bombyx mori* e a presença de asma ($p=0,36$) (GRÁFICO 5).

Da mesma maneira não se observou diferença significativa na frequência de positividade do TCA para *Bombyx mori* nas diferentes formas de asma ($p = 0,73$) (GRÁFICO 6).

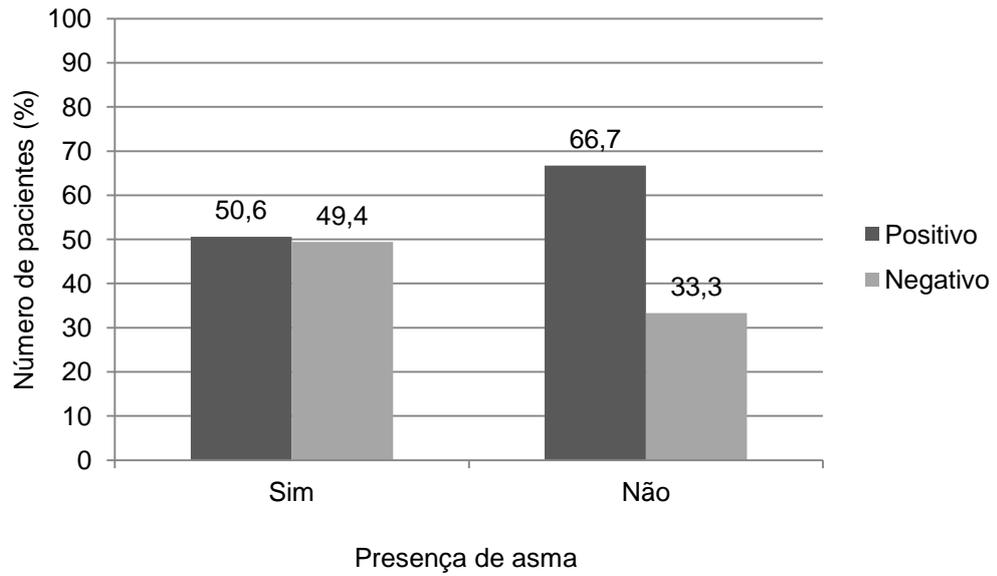


GRÁFICO 5 – FREQUÊNCIA DE REATIVIDADE AO TCA PARA *Bombyx mori* E PRESENÇA DE ASMA (n 99)

NOTA: Teste exato de Fisher: $p = 0,36$

FONTE: O autor (2013)

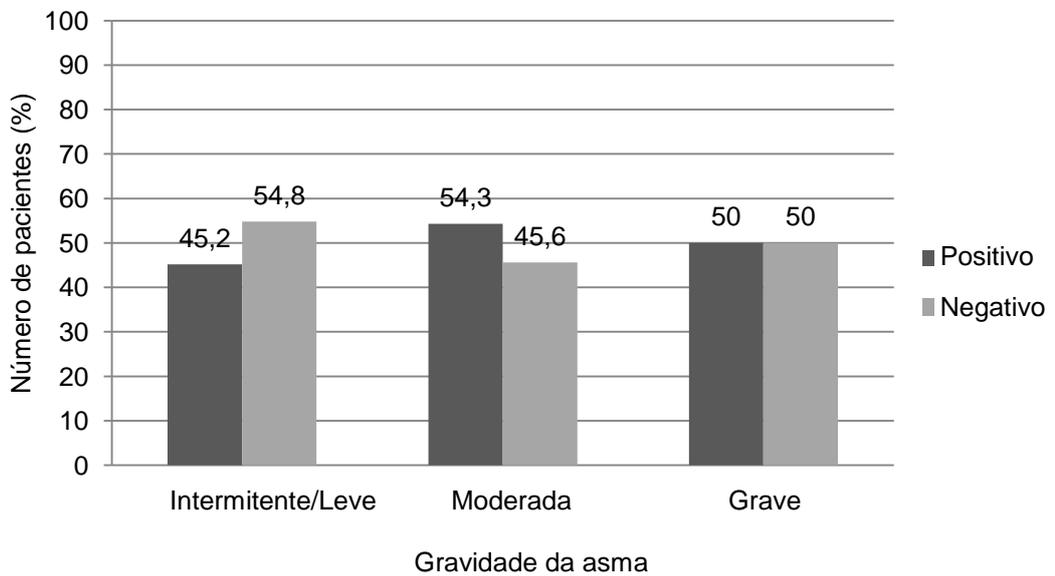


GRÁFICO 6 – DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA QUANTO À POSITIVIDADE DO TCA PARA *Bombyx mori* DE ACORDO COM A GRAVIDADE DA ASMA (n 99)

NOTA: Teste qui-quadrado de Pearson: $p = 0,73$

FONTE: O autor (2013)

Não se observou associação significativa entre a positividade ao TCA para *Bombyx mori* e a presença de sintomas oculares ($p = 0,14$), mas houve associação com dermatite atópica ($p=0,03$) e urticária ($p=0,02$).

A positividade ao TCA foi semelhante entre os pacientes com e sem história familiar de alergia (51,5% versus 54,5%, $p = 0,83$). Não houve associação com tabagismo ou presença de animais domésticos ($p > 0,05$).

4.4 RELAÇÃO ENTRE TCA PARA *Bombyx mori* E DEMAIS TESTES CUTÂNEOS

Na TABELA 5 estão apresentadas as frequências de positividade à *Bombyx mori* em relação aos demais testes cutâneos. Houve uma tendência em haver mais testes cutâneos positivos para *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Lolium multiflorum*, epitélio de cão e epitélio de gato no grupo de pacientes cujo TCA também foi positivo para *Bombyx mori*, porém a associação não foi estatisticamente significativa. Para *Blattella germanica* houve mais testes cutâneos positivos no grupo de pacientes não sensibilizados à mariposa pelo TCA do que nos sensibilizados.

TABELA 5 – ASSOCIAÇÃO ENTRE POSITIVIDADE AO TCA PARA *BOMBYX MORI* E OS DEMAIS TESTES CUTÂNEOS (n 99)

ALÉRGENOS	TCA BOMBYX +	TCA BOMBYX –	p
	n 52 (%)	n 47 (%)	
DP	43 (82,7)	39 (83,0)	1,00
BT	36 (69,2)	33 (70,2)	1,00
BG	08 (15,4)	09 (19,1)	0,79
LM	09 (17,3)	06 (12,8)	0,58
Epitélio cão	11 (21,1)	05 (10,6)	0,18
Epitélio gato	08 (15,4)	04 (8,5)	0,36

NOTA: Teste exato de Fisher

FONTE: O autor (2013)

4.5 RELAÇÃO ENTRE DOSAGENS DE IgE SÉRICA TOTAL E ESPECÍFICAS E POSITIVIDADE DO TCA PARA *Bombyx mori*

Análise dos níveis séricos de anticorpos IgE total e específicos em relação ao TCA para *Bombyx mori* mostrou haver uma tendência a serem mais elevados em pacientes sensibilizados à mariposa (TCA positivo à *Bombyx mori*). No entanto, só foram significativamente elevados os níveis de IgE específica sérica para barata (*Blattella germanica*) ($p=0,02$) e para a própria mariposa (*Bombyx mori*) ($p<0,001$) (TABELA 6).

TABELA 6 – NÍVEIS SÉRICOS DE IgE TOTAL E ESPECÍFICAS DE ACORDO COM A POSITIVIDADE AO TCA PARA *Bombyx mori* (n 99)

NÍVEIS DE IGE	TCA + (n 52)	TCA – (n 47)	p
DP	88,8 (0,0 – 146,0)	62,6 (0,0 – 144,0)	0,75
DF	50,3 (0,0 – 127,0)	36,2 (0,0 – 126,0)	0,77
BT	24,2 (0,0 – 113,0)	11,9 (0,0 – 111,0)	0,07
BG	1,0 (0,0 – 52,4)	0,3 (0,0 – 37,3)	0,002
Cão	0,2 (0,0 – 6,3)	0,2 (0,0 – 31,5)	0,13
Gato	0,0 (0,0 – 71,3)	0,0 (0,0 – 32,5)	0,14
Bombyx	3,1 (0,0 – 100,0)	0,4 (0,0 – 83,0)	<0,001
IgE Total	1107,0 (73,9 – 5000,0)	772,0 (93,0 – 5000,0)	0,13

NOTA: Teste de Mann-Whitney

FONTE: O autor (2013)

Da mesma maneira, houve uma tendência de se encontrar mais IgEs específicas positivas ($>0,7$ kUA/L) nos pacientes cujos testes cutâneos alérgicos foram positivos à mariposa (*Bombyx mori*). No entanto, só houve significativamente maior frequência de positividade às IgEs específicas para barata (*Blattella germanica*) ($p=0,04$) e a própria mariposa (*Bombyx mori*) ($p=0,03$) (TABELA 7).

TABELA 7 – FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE ÀS IgEs ESPECÍFICAS DE ACORDO COM A POSITIVIDADE AO TCA PARA *Bombyx mori* (n 99)

IGE ESPECÍFICA ALÉRGICOS	TCA + n 52 (%)	TCA – n 47 (%)	p
DP	45 (52,3)	41 (47,7)	1,00
DF	45 (52,9)	40 (47,1)	1,00
BT	48 (54,5)	40 (45,4)	0,34
BG	30 (63,8)	17 (36,2)	0,04
Cão	16 (72,7)	06 (27,3)	0,05
Gato	11 (68,7)	05 (31,2)	0,18
Bombyx	39 (65,0)	21 (35,0)	0,003

NOTA: Teste exato de Fisher

FONTE: O autor (2013)

4.6 CURVAS ROC – SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS VALORES DE IgE ESPECÍFICA À *Bombyx mori* PARA O DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS ALÉRGICAS

Os valores de IgE específica para *Bombyx mori* apresentaram baixa sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de asma (AUC=0,5) (APÊNDICE 8) e de conjuntivite alérgica (AUC=0,47) (APÊNDICE 9).

Não foi possível analisar sensibilidade e especificidade dos níveis de IgE específica à *Bombyx mori* para o diagnóstico de rinite, pois quase a totalidade da dos pacientes tinha diagnóstico de rinite. Por outro lado, para dermatite atópica e urticária não foram feitas as curvas ROC porque a amostra era pequena.

4.7 CURVAS ROC – SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DOS NÍVEIS DE IgE TOTAL E ESPECÍFICAS PARA A OCORRÊNCIA DE TCA POSITIVO PARA *Bombyx mori*

Foram feitas curvas ROC para analisar sensibilidade e especificidade dos valores de IgE total e IgEs específicas para a positividade do TCA para *Bombyx mori*. Os valores de IgE total apresentaram baixa sensibilidade e especificidade para a ocorrência de TCA positivo para *Bombyx mori* (AUC=0,58) (APÊNDICE 10).

Assim como os níveis de IgE específica para: *Dermatophagoides pteronyssinus* (AUC=0,51) (APÊNDICE 11), *Dermatophagoides farinae* (AUC=0,51) (APÊNDICE 12), *Blomia tropicalis* (AUC=0,60) (APÊNDICE 13), *Blattella germanica* (AUC=0,67) (APÊNDICE 14), epitélio de cão (AUC=0,58) (APÊNDICE 15) e epitélio de gato (AUC=0,58) (APÊNDICE 16). No entanto, os valores de IgE específica para *Bombyx mori* foram sensíveis e específicos para a ocorrência de TCA positivo para *Bombyx mori* (APÊNDICE 17).

4.8 CORRELAÇÃO ENTRE IgE TOTAL E IgES ESPECÍFICAS

No estudo da correlação entre os níveis séricos de IgE total e IgEs específicas observou-se fraca associação da IgE total com os níveis IgE específica para: *Dermatophagoides pteronyssinus* (APÊNDICE 18), *Dermatophagoides farinae* (APÊNDICE 19), *Blomia tropicalis* (APÊNDICE 20) e *Bombyx mori* (GRÁFICO 13). Não houve correlação entre os níveis de IgE total e IgEs específicas para *Blattella germanica* (APÊNDICE 21), epitélio de cão (APÊNDICE 22) e epitélio de gato (APÊNDICE 23).

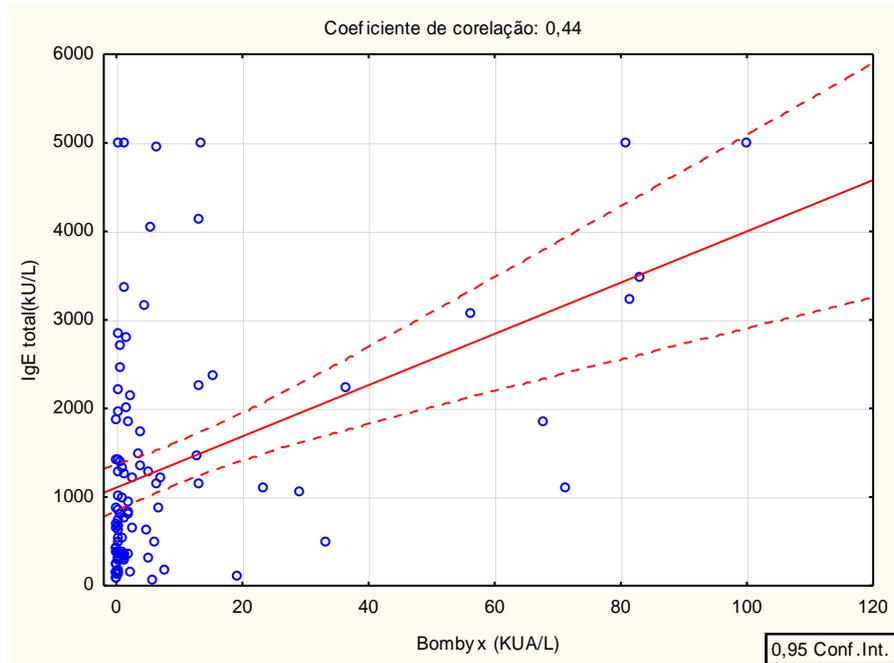


GRÁFICO 7 – DIAGRAMA DE DISPERSÃO PARA NÍVEIS DE IgE TOTAL
E IgE ESPECÍFICA PARA *Bombyx mori*

NOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,44$

FONTE: O autor (2013)

5 DISCUSSÃO

Os alérgenos estão fortemente relacionados à indução de sensibilização, determinada por meio da positividade aos testes cutâneos ou detecção de IgE específica sérica. A exposição de indivíduos sensibilizados a alérgenos inalantes leva ao desenvolvimento de sintomas de asma e rinite alérgica (CUSTOVIC *et al.*, 1996). Por isso o conhecimento sobre os aeroalérgenos sensibilizantes é fundamental para o diagnóstico e tratamento destas doenças (DUTRA; ROSÁRIO; ZAVADNIAK, 2001).

Já é conhecido que os ácaros da poeira doméstica são as principais fontes alergênicas em pacientes com doenças alérgicas respiratórias na cidade de Curitiba (TRIPPIA; ROSÁRIO FILHO; FERRARI, 1998). A espécie *Dermatophagoides pteronyssinus* é o principal alérgeno inalável sensibilizante de crianças atendidas em diversos serviços brasileiros de alergia, determinado tanto por TCA (RIZZO *et al.*, 1995) quanto por IgE específica sérica (NASPITZ *et al.*, 2004). Da mesma maneira, os principais alérgenos sensibilizantes na população do estudo foram os ácaros da poeira. A maioria dos pacientes apresentou positividade às espécies testadas (*Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*) por meio de TCA e ImmunoCAP®.

Há pouca informação sobre a importância de anticorpos IgE específicos contra insetos em pacientes com doenças alérgicas respiratórias. Embora o papel dos insetos como alérgenos inalantes, provocando sintomas de asma e rinite seja discutido há décadas (PEARLMAN, 1958), apenas uma pesquisa nacional foi realizada. Mendes e Lacaz (1965) demonstraram alta taxa de sensibilização a extratos de insetos em pacientes asmáticos na cidade de São Paulo (n=40), sendo a mariposa o principal (65,0%), seguido de insetos domésticos (32,5%) e mosquitos (7,5%).

A mariposa foi o segundo aeroalérgeno em frequência de positividade verificada tanto por meio de TCA quanto por IgE específica sérica, após os ácaros da poeira, sugerindo que este inseto deve ser considerado agente sensibilizante de pacientes com asma e rinite alérgica.

Alergia respiratória à mariposa do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) foi inicialmente descrita entre trabalhadores da indústria da seda diagnosticados com

asma (INASAWA; HORIKOSHI; TOMIOKA, 1973; WANG; ZHENG; ZHANG, 1994) e rinoconjuntivite (KOBAYASHI, 1974) em países como China e Japão, onde a sericicultura é uma atividade econômica tradicional.

Os participantes do estudo não são expostos a mariposas do bicho-da-seda. Assim como demonstrado por Kino e Oshima (1978), pacientes asmáticos selecionados aleatoriamente, ou seja, sem exposição ocupacional, apresentaram sensibilidade à mariposa e à borboleta por meio de teste intradérmico e RAST no soro em mais de um terço dos casos. Os autores concluem que são insetos facilmente atraídos pela luz artificial das residências e podem provocar sensibilização e sintomas de alergia respiratória.

Grupo de asmáticos sem história de exposição ocupacional (n=50) apresentou frequência de positividade ao TCA para *Bombyx mori* de 68% (KINO; OSHIMA, 1979), mais elevada que a dos pacientes do presente estudo (52,5%); em ambos foi utilizado extrato antigênico preparado a partir das asas das mariposas. Esta diferença talvez ocorra porque a população estudada no Japão era menor, composta por adultos, com diferentes hábitos de vida e expostos a clima e ambiente diversos.

Nesta pesquisa verificou-se que houve relação entre a positividade ao TCA para *Bombyx mori* e a correspondente IgE específica sérica por ImmunoCAP®, o que demonstra a efetividade do extrato confeccionado para testar sensibilização à mariposa. Além disso, nos pacientes que apresentaram TCA positivo, os níveis de IgE específica para *Bombyx mori* foram mais elevados.

Suzuki *et al* (1995) demonstraram que a mariposa do bicho-da-seda foi responsável pelo terceiro índice de sensibilidade pelo método RAST-CAP em pacientes com rinite alérgica. As principais foram ácaros, seguidos de polens. Na população do presente estudo foi a segunda taxa em frequência de positividade, após espécies de ácaro da poeira. Essa diferença possivelmente ocorreu por se tratarem de populações distintas, sujeitas a diferentes intensidades de exposição a alérgenos. A maioria dos pacientes do estudo em Curitiba apresentava diagnóstico de asma associada à rinite. Além disso, nestes participantes não foram dosadas IgEs específicas séricas para polens.

Na avaliação da frequência de positividade à IgE específica para mariposa conforme a gravidade da rinite alérgica (n=267), observou-se que pacientes com doença mais grave apresentavam mais IgEs específicas séricas positivas para a

mariposa pelo método RAST (SUZUKI *et al.*, 1995). Diferente do encontrado para a população do presente estudo, em que houve maior positividade ao TCA para *Bombyx mori* em pacientes com rinite, porém não houve relação com a gravidade dos sintomas. Esta diferença talvez se explique porque foram utilizados métodos diferentes de detecção de IgE específica e o número de participantes incluídos foi maior no estudo realizado no Japão.

Embora a população avaliada de pacientes com dermatite atópica e urticária seja pequena, foram diagnosticadas mais doenças alérgicas dermatológicas nos reativos à mariposa. Sendo este um aspecto que poderia ser estudado futuramente, pois há poucos relatos sobre reações alérgicas e irritantes na pele por contato com mariposas (DINEHART *et al.*, 1985; OOI *et al.*, 1991).

Observou-se que embora haja alta frequência de sensibilização à mariposa, os níveis de IgE específica para *Bombyx mori* são mais baixos quando comparados aos dos ácaros da poeira e provavelmente não contribuem isoladamente para os altos níveis de IgE total desta população.

A sensibilização é fundamental para a presença da doença atópica, contudo os níveis de IgE específica não se relacionam com o desenvolvimento ou gravidade dos sintomas alérgicos, (SPORIK; PLATTS MILLS; COGSWELL, 1993) possivelmente por isso os valores de IgE específica sérica para *Bombyx mori* não apresentaram boa sensibilidade ou especificidade nos casos de asma e conjuntivite alérgica nos pacientes avaliados.

A gravidade dos sintomas alérgicos guarda relação com os níveis e frequência de exposição aos alérgenos (SPORIK; PLATTS MILLS; COGSWELL, 1993). No Japão, verificou-se a presença do alérgeno da mariposa do bicho-da-seda em suspensão no ar por imunoenaios a partir de poeira coletada em ambiente externo e comprovou-se que é um alérgeno sensibilizante de pacientes asmáticos por meio de TCA e IgE específica sérica (KINO *et al.*, 1987). No entanto, não há dados na literatura comparando intensidade de exposição a alérgenos da mariposa com gravidade da doença alérgica. Este é um aspecto que poderá ser explorado futuramente nos pacientes estudados na cidade de Curitiba.

Observou-se que são encontradas partículas de insetos, predominantemente mariposas, na poeira coletada mensalmente no período de um ano em duas localidades distintas. Percebeu-se ainda que há flutuações nas suas concentrações durante o ano, sugerindo que possam ter variação sazonal (KINO *et al.*, 1987;

WYNN *et al.*, 1988). Nos participantes do presente estudo, não foi relatado padrão de sazonalidade dos sintomas nasais, pois a maioria tinha diagnóstico de rinite persistente. Para verificar se em Curitiba ocorrem variações na concentração de alérgenos da mariposa durante o ano, são necessários estudos sobre exposição a aeroalérgenos, especialmente em pacientes com rinite sazonal.

Sabe-se que há reatividade cruzada entre alérgenos de insetos (LIERL; RIORDAN; FISCHER, 1994). Foi demonstrado por ensaio de inibição do RAST que há reação cruzada entre espécies semelhantes como mariposa e borboleta (KINO; OSHIMA, 1979), mas também entre espécies distintas como mariposa e mosquito (KOMASE *et al.*, 1997).

Com a introdução da alergia molecular, foi possível identificar que o alérgeno principal da *Bombyx mori* é uma arginina quinase e apresenta reatividade cruzada com a arginina quinase da barata (LIU *et al.*, 2008). No estudo, observou-se que os pacientes reativos à *Bombyx mori* por TCA apresentavam mais frequência de positividade e níveis mais altos de IgEs específicas séricas para a espécie de barata *Blattella germanica*, o que poderia ser justificado pela reatividade cruzada entre elas. No entanto, o mesmo não ocorreu quando se comparou apenas a positividade aos testes cutâneos entre mariposa e barata. Portanto, para se diferenciar entre múltiplas sensibilizações alérgicas e reatividades cruzadas, em pesquisas futuras poderemos utilizar tecnologias mais modernas de diagnóstico baseado na alergia molecular, capazes de identificar os verdadeiros componentes alergênicos envolvidos nas doenças alérgicas (MARI, 2008; MELIOLI *et al.*, 2012).

Determinados componentes alergênicos dos insetos são considerados panalérgenos (quando há ampla reatividade cruzada entre espécies de insetos taxonomicamente relacionadas ou não) (KOMASE *et al.*, 1997), talvez esse possa ser o motivo de os pacientes avaliados terem sensibilização à mariposa do bicho-da-seda sem apresentarem exposição à mesma. Pois são descritos sintomas relacionados à alergia respiratória provocados pelas mais diversas espécies de insetos presentes nos mais variados ambientes (FEINBERG; FEINBERG; BENAIM-PINTO, 1956).

Por outro lado, testes de inibição com extratos de mariposa e ácaro revelaram diferenças entre os seus anticorpos, provando não existir reatividade cruzada entre os mesmos (KINO; OSHIMA, 1979). Na população do estudo, não houve associação entre reatividade cutânea pelo TCA aos antígenos de mariposa e ácaros

(*Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*). Da mesma forma não houve associação entre positividade ao TCA para *Bombyx mori* e a presença de IgE específica sérica para ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* e *Blomia tropicalis*). Adicionalmente, estas mesmas IgEs específicas apresentaram baixa sensibilidade e especificidade para a presença de TCA positivo para *Bombyx mori*, mostrando que provavelmente não há reatividade cruzada entre eles.

Suzuki *et al* (1995) corroboram com estes achados ao demonstrar que não houve interrelação entre as taxas de positividade de IgE contra ácaros e alérgenos de insetos, inclusive a mariposa. Concluiu-se que alergias a insetos são independentes das de ácaros.

Este estudo foi o primeiro sobre sensibilização à mariposa do bicho-da-seda realizado no Brasil. Destacou-se a importância da *Bombyx mori* como alérgeno sensibilizante de escolares e adolescentes com diagnóstico de doenças alérgicas respiratórias (asma e/ou rinite) na cidade de Curitiba e região metropolitana. Dificuldades técnicas e financeiras nos distanciaram do objetivo inicial desta pesquisa, que era identificar os componentes alergênicos desta espécie de mariposa a partir de diagnóstico baseado em alergia molecular.

No entanto, foi possível demonstrar alta frequência de sensibilização à *Bombyx mori* nos pacientes avaliados, inicialmente por meio de TCA com extrato preparado a partir das asas das mariposas e posteriormente, estes resultados foram confirmados por meio do ImmunoCAP®, método consagrado de detecção de IgE específica sérica.

Mesmo com algumas limitações (número pequeno de pacientes e ausência de grupo controle), este estudo chamou atenção para o alérgeno da mariposa (*Bombyx mori*) como agente sensibilizante nas doenças alérgicas respiratórias. Apresentando-se como o segundo em frequência, após os ácaros da poeira.

O reconhecimento deste aeroalérgeno (mariposa) junto aos demais grupos que compõem o perfil de sensibilização alérgica nesta população deverá tornar o tratamento destes pacientes mais eficiente, na medida em que permitirá ajustes nas orientações sobre controle ambiental e futuramente proporcionará novas opções de imunoterapia específica contra este inseto.

6 CONCLUSÃO

Verificou-se que cerca de metade dos pacientes com diagnóstico de asma e/ou rinite alérgica testados apresentaram reatividade cutânea ao extrato confeccionado a partir das asas da espécie de mariposa do bicho-da-seda *Bombyx mori*.

Obteve-se da mesma maneira alto índice de positividade à *Bombyx mori* por meio do ImmunoCAP, sendo o segundo em frequência, após o grupo de ácaros da poeira. A mediana dos níveis de IgE específica sérica para *Bombyx mori* foi mais baixa que a das três espécies de ácaros da poeira (*Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Dermatophagoides farinae*), porém mais alta que a dos outros alérgenos testados (barata e epitélios de cão e gato).

Os valores de IgE específica sérica à *Bombyx mori* foram sensíveis e específicos para a ocorrência de TCA positivo à *Bombyx mori*. Além disso, os pacientes reativos à mariposa pelo TCA apresentaram maior frequência de positividade e maiores níveis de IgE específica sérica para mariposa, confirmando que extrato preparado é eficiente para testar sensibilização a esta espécie de mariposa do bicho-da-seda. Nos pacientes com rinite alérgica, urticária e dermatite atópica houve mais reatividade cutânea à mariposa, porém o mesmo não ocorreu para asma e também não houve associação entre positividade ao TCA para *Bombyx mori* e a gravidade das doenças alérgicas respiratórias (asma e rinite).

REFERÊNCIAS

AHLSTEDT, S. Understanding the usefulness of specific IgE blood tests in allergy. **Clinical and Experimental Allergy**, v.32, p.11-16, 2002.

Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008. **Allergy**, v.63, p.8-160, 2008.

AMERICAN ACADEMY OF ASTHMA, ALLERGY AND IMMUNOLOGY: POSITION STATEMENT. The use of in vitro tests and/or IgE antibody in the specific diagnosis of IgE-mediated disorders on the formulation of allergen immunotherapy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.90, p.263-7, 1992.

ARRUDA, K.L.; VAILES, L.D.; FERRIANI, V.P.L.; SANTOS, A.B.R.; POMMÉS, A.; CHAPMAN, M.D. Cockroach allergens and asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.107, p.417-28, 2000.

ARSHAD, S.H.; TARIQ, S.M.; MATTHEWS, S.; HAKIM, E. Sensitization to common allergens and its association with allergic disorders at age 4 years: a whole population birth cohort study. **Pediatrics**, v.108, p.1-8.

BOUSQUET, J. Pathophysiology of skin tests. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Sub-Committee on skin tests. **Allergy**, v.48, p.450-4, 1993.

BOUSQUET, J.; KHALTAEV, N.; CRUZ, A.A.; DENBURG, J.; FOKKENS, W.J.; TOGIAS, A.; ZUBERBIER, T.; BAENA-CAGNANI, C.E.; CANONICA, W.G.; VAN WEEL, C.; AGACHE, I.; AÏT-KHALED, N.; BACHERT, C.; BLAISS, M.S.; BONINI, S.; BOULET, L.P.; BOUSQUET, P.J.; CAMARGOS, P.; CARLSEN, K.H.; CHEN, Y.; CUSTOVIC, A.; DAHL, L.; DEMOLY, P.; DOUAGUI, H.; DURHAM, S.R.; GERTH-VAN-WIJK, R.; KALAYCI, O.; KALINER, M.A.; KIM, Y.Y.; KOWALSKI, M.L.; KUNA, P.; LE, L.T.T.; LEMIERE, C.; LI, J.; LOCKEY, R.F.; MAVALE-MAUEL, S.; MELTZER, E.O.; MOMULLOL, J.; NACLERIO, R.; HAMMAD, Y.; O'HEHIR, R.E.; OHTA, K.; OUEDRAOGO, S.; PALKONEN, S.; PAPADOPOULUS, N.G.; PASSALACQUA, G.; PAWANKAR, R.; POPOV, T.A.; RABE, K.F.; ROSADO-PINTO, J.; SCADDING, G.K.; SIMONS, F.E.R.; TOSKALA, E.; VALOVIRTA, E.; VAN CAUWENBERGE, P.; WANG, D.Y.; WICKMAN, M.; YAWN, B.P.; YORGANCIOGLU, A.; YUSUF, O.M.; ZAR, H. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update. **Allergy**, v.63, p.8-160, 2008.

BOUSQUET, J.; HEINZERLING, L.; BACHERT, C.; PAPADOPOULUS, N.G.; BOUSQUET, P.J.; BURNEY, P.G.; CANONICA, W.G.; CARLSEN, K.H.; HAAHTELA, T.; LODRUP CARLSEN, K.C.; PRICE, D.; SAMOLINSKI, B.; SIMONS, F.E.R.;

WICKMAN, M.; ANNESI-MAESANO, I.; BAENA-CAGNANI, C.E.; BERGMANN, K.C.; BINDSLEV-JENSEN, C.; CASALE, T.B.; CHIRIAC, A.; CRUZ, A.A.; DUBAKIENE, R.; DURHAM, S.R.; FOKKENS, W.J.; GERTH-VAN-WIJK, R.; KALAYCI, O.; KOWALSKI, M.L.; MARI, A.; MULLOL, J.; NAZAMOVA-BARANOVA, L.; O'HEHIR, R.E.; OHTA, K.; PANZNER, P.; PASSALACQUA, G.; RING, J.; ROGALA, B.; ROMANO, A.; RYAN, D.; SCHMID-GRENDELMEIER, P.; TODO-BOM, A.; VALENTA, A.; WOEHL, S.; YUSUF, O.M.; ZUBERBIER, T.; DEMOLY, P. Practical guide to skin prick test in allergy to aeroallergens. **Allergy**, v.67, p.18-24, 2012.

BOUSQUET, P.J.; BURBACH, G.J.; HEINZERLING, L.; EDENHARTER, G.; BACHERT, C.; BINDSLEV-JENSEN, C.; BONINI, S.; BOUSQUET ROUANET, P.L.; BOUSQUET ROUANET, P.L.; BRESCIANI, M.; BRUNO, A.; GJOMARKAJ, M.; CANONICA, W.G.; DARSOW, U.; DURHAM, S.R.; FOKKENS, W.J.; GIAVI, S.; GRAMICCIONI, C.; PAPADOPOULUS, M.G.; HAAHTELA, T.; KOWALSKI, M.L.; MAGYAR, P.; MURAKÖZI, G.; OROSZ, M.; RÖHNELT, C.; STINGL, G.; TODO-BOM, A.; VON MUTIUS, E.; WIESNER, A.; WOEHL, S.; BOUSQUET, J.; ZUBERBIER, T. Ga²len skin test study III: minimum battery of test inhalant allergens needed in epidemiological studies. **Allergy**, v.64, p.1656-62, 2009.

BURBACH, G.J.; HEINZERLING, L.M.; EDENHARTER, G.; BACHERT, C.; BINDSLEV-JENSEN, C.; BONINI, S.; BOUSQUET, J.; BOUSQUET ROUANET, P.L.; BOUSQUET, P.J.; BRESCIANI, M.; BRUNO, A.; CANONICA, W.G.; DARSOW, U.; DEMOLY, P.; DURHAM, S.R.; FOKKENS, W.J.; GIAVI, S.; GJOMARKAJ, M.; GRAMICCIONI, C.; HAAHTELA, T.; KOWALSKI, M.L.; MAGYAR, P.; MURAKÖZI, G.; OROSZ, M.; PAPADOPOULUS, M.G.; RÖHNELT, C.; STINGL, G.; TODO-BOM, A.; VON MUTIUS, E.; WIESNER, A.; WÖHL, S.; ZUBERBIER, T. Ga²len skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitization in Europe. **Allergy**, v.64, p.1507-15, 2009.

COOKSON, W. The alliance of genes and environment in asthma and allergy. **Nature**, v.102, p. 18-23, 1999.

CORRADELO, E.F.A. In: **Bicho-da-seda e amoreira: da folha ao fio, a trama de um segredo milenar**. São Paulo:Cone, 1987.

CUSTOVIC, A.; TAGGART, S.C.O.; FRANCIS, H.C.; CHAPMAN, M.; WOODCOCK, A. Exposure to house dust mite allergens and the clinical activity of asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.98, p.64-72, 1996.

CUSTOVIC, A.; SIMPSON, A. Environmental allergen exposure, sensitisation and asthma: from whole population to individuals at risk. **Thorax**, v.59, p.825-7, 2004.

DEMOLY, P.; MICHEL, F.; BOUSQUET, J. In vivo methods for study of allergy. Skin tests, technique and interpretation. In: MIDDLETON, E.; REED, C.; ELLIS, E.; ADKINSON, N.; YUNGINGER, J.; BUSSE, W. **Allergy, Principles and Practice**. St Louis: Mosby Co, 1998. p.530-9.

DINEHART, S.M.; ARCHER, M.E., WOLF, J.E.; MCGRAVAN, M.H.; REITZ, C.; SMITH, E.B. Caripito itch: dermatitis from contact with Hylesia moths. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.13, p.743-7, 1985.

DUTRA, B.M.R.S.; ROSÁRIO, N.A.; ZAVADNIAK, A.F. Alérgenos inaláveis em Curitiba: uma revisão de sua relevância clínica. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v. 24, p. 189-95, 2001.

EUROPEAN ACADEMY OF ALLERGOLOGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY POSITION PAPER: IMMUNOTHERAPY. **Allergy**, v.48, p.7-35, 1993.

FEINBERG, A.R.; FEINBERG, S.M.; BENAIM-PINTO, C. Asthma and rhinitis from insect allergens. **Journal of Allergy**, v.27, p.437-44, 1956.

FONSECA, A.S.; FONSECA, T.C. In: **Cultura da amoreira e criação do bicho-da-seda: Sericicultura**. São Paulo: Nobel, 1988.

GELL, O.G.H.; COOMBS, R.R.A. **Clinical Aspects of Immunology**, 2.ed. Oxford: Blackwell, 1968, p.575-96.

Global Initiative for Asthma – GINA. Bethesda: Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Treatment and Prevention, 2006. Última atualização: http://www.ginasthma.org/pdf/GINA_Report_2010.pdf.

HAMILTON, R.G. Diagnosis and treatment of allergy to hymenoptera venoms. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v.10, p. 323-29, 2010.

HARINDRANATH, N.; PRAKASH,O.M.; SUBBA RAO, P.V. Prevalence of occupational asthma in silk filatures. **Annals of Allergy**, v.55, p.511-5, 1985.

INASAWA, M.; HORIKOSHI, K.; TOMIOKA, S. A study of bronchial asthma related to silkworm culturing. **Japanese Journal of Allergology**, v.22, p.142, 1973.

ISHIZAKA, K.; ISHIZAKA, T.; HORNBROOK, M.M. Identification of γ E-antibodies as a carrier of reaginic activity. **Journal of Immunology**, v.99, p.1187-98, 1967.

JOHANSSON, S.G.O. ImmunoCAP® Specific IgE test: an objective tool for research and routine allergy diagnosis. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v.4, p.273-9, 2004.

KINO, T.; OSHIMA, S. Allergy to insects in Japan I. The reaginic sensitivity to moth and butterfly in patients with bronchial asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.61, p.10-6, 1978.

KINO, T.; OSHIMA, S. Allergy to insects in Japan II. The reaginic sensitivity to silkworm in patients with bronchial asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.64, p.131-8, 1979.

KINO, T.; CHIHARA, J.; FUKUDA, K.; SASAKI, Y.; SHOGAKI, Y.; OSHIMA, S. Allergy to insects in Japan III. High frequency of IgE antibody responses to insects (moth, butterfly, caddis fly, and chironomid) in patients with bronchial asthma immunochemical quantitation of the insect related airborne particles smaller than 10 μ m in diameter. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.79, p.857-66, 1987.

KOBAYASHI, S. Studies on antigenic substances in sericulture. **Japanese Journal of Clinical Immunology**, v.2, p.447-50, 1970.

KOBAYASHI, S.; NAKAZAWA, T.; YOSHIDA, S. A study on antigenic substances of asthma in sericulture. Part 3. **Japanese Journal of Allergology**, v.21, p.107, 1972.

KOBAYASHI, S. Occupational asthma due to inhalation of pharmacological dusts and other chemical agents with some reference to other occupational asthma in Japan. In: **Allergology**. Amsterdam: Excerpta Medica, p.53, 1974.

KOMASE, Y.; SAKATA, M.; AZUMA, T.; TANAKA, A.; NAKAGAWA, T. IgE antibodies against midge and moth found in Japanese asthmatic subjects and comparison of allergenicity between these two insects. **Allergy**, v.52, p.75-81, 1997.

LIERL, M.B.; RIORDAN, M.M.; FISCHER, T.J. Prevalence of insect allergen-specific IgE in allergic asthmatic children in Cincinnati, Ohio. **Annals of Allergy**, v.72, p.45-50, 1994.

LIU, Z.; XIA, L.; WU, Y.; XIA, Q.; XEN, J.; ROUX, K.H. Identification and characterization of an arginin kinase as a major allergen from silkworm (*Bombyx mori*) larvae. **Internal Archives of Allergy and Clinical Immunology**, v.150, p.8-14, 2008.

MAKINEN-KILJUNEN, S.; MUSSALO-RAUHAMAA, H.; PETMAN, L.; RINNE, J.; HAAHTELA, T. A baker's occupational allergy to flour moth (*Epehstia kueeniella*). **Allergy**, v.56, p.696-700, 2001.

MARI, A. When does a protein become an allergen? Searching for a dynamic definition based on most advanced technology tools. **Clinical and Experimental Allergy**, v.38, p.1089-94, 2008.

MELIOLI, G.; MARCOMINI, L.; AGAZZI, A.; BAZURRO, G.; TOSCA, M.; ROSSI, G.A.; MINALE, P.; ROSSI, R.; REGGIARDO, G.; CANONICA, G.W.; PASSALACQUA, G. The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: A cross-sectional study. **Pediatric Allergy and Immunology**, v.40, p.433-40, 2012.

MENDES, E.; LACAZ, C.S. Alergia a insetos. In: **Alergia nas regiões tropicais**. São Paulo: Editora Universidade de São Paulo, p.89, 1965.

MIMURA, T.; AMANO, S.; FUNATSU, H.; YAMAGAMI, S.; ARAIE, M.; KAJI, Y.; ARIMOTO, A.; ISHIDA, Y.; USUI, T.; OKAMOTO, S. Correlations between allergen-specific IgE serum levels in patients with allergic conjunctivitis in spring. **Ocular Immunology and Inflammation**, v.12, p.45-51, 2004.

MOREIRA, P.F.S. **Reatividade anticórpica IgE, IgG1e IgG4 específica a antígenos de pólen de *Lolium multiflorum* (Lam1779) em pacientes com polinose**. 68f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia aplicadas) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.

NAKAZAWA, T.; UMEGAE, Y. Sericulturist's lung disease: hypersensitivity pneumonitis related to silk production. **Thorax**, v.45, p.233-4, 1990.

NASPITZ, C.K.; SOLÉ, D.; JACOB, C.A.; SARINHO, E.; SOARES, F.J.P.; DANTAS, V.; MALLOZI, M.C.; WANDALSEN, N.F.; BORGES, W.; ROCHA FILHO, W. Sensibilização a alérgenos inalantes e alimentares em crianças brasileiras atópicas, pela determinação in vitro de IgE total e específica – Projeto Alergia (PROAL). **Jornal de Pediatria (Rio J)**, v.80, p.203-10, 2004.

NELSON, H.S. In vivo testing for immunoglobulin E-mediated sensitivity. In: LEUNG, D.Y.M., SAMPSON, H.A.; GEHA, R.; SZEFLER, S.J. **Pediatric Allergy- Principles and Practice**. 2^aed. Oxford: Elsevier, p.250-8, 2011.

OGINO, S.; IRIFUNE, M.; KO, S.; HARADA, T., KIKUMORI, H.; NOSE, M.; MATSUNAGA, T. Allergen skin tests to insects, chironomid, caddis fly and silkworm moth, in patients with nasal allergy. **Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho**,v.93, p.1200-6, 1990.

OKINO, I. **Manual da Sericicultura**. Bauru: Abraseda, 1982, p.102-10.

OKUDA, M.; USAMI, A.; ITOH, H.; OGINO, S. Nationwide investigation of insect allergy in patients with allergic rhinitis. **Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho**,v.105, p.1181-8, 2002.

OOI, P.L.; GOH, K.T.; LEE, H.S.; GOH, C.L. Tussockosis: an outbreak of dermatitis caused by tussock moths in Singapore. **Contact Dermatitis**, v.24, p.197-200, 1991.

OWNBY, D.R. Allergy testing: in vivo versus in vitro. **Pediatric Clinics of North America**, v. 35, p.995-1000, 1988.

PATTERSON, R.; GRAMMER, L.C.; GREENBERGER, P.A. In: **Allergic Disease, Diagnosis and Management**. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997.

PERLMAN, F. Insects as inhalant allergens. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.29, p.302-28, 1958.

PRINCÍPIO de teste IgE ImmunoCAP. Disponível em: < <http://www.phadia.com/pt-BR/Laboratorios/Allergy/Produtos/ImmunoCAP-Ensaio/IgG-Especifica-ImmunoCAP/Principio-de-Teste-IgE-ImmunoCAP>>. Acesso em 12/02/2012.

PRZYBILLA, B.; EBEN, R. Insect allergy – elicited by millions of species? **Allergologie**, v.31, p.361-5, 2008.

RIZZO, M.C.; SOLÉ, D.; RIZZO, A.; HOLANDA, M.A.; RIOS, J.B.M.; WANDALSEN, N.F.; ROSÁRIO, N.A. Etiologia da doença atópica em crianças brasileiras - Estudo multicêntrico. **Jornal de Pediatria (Rio J)**, v.71, p.31-5, 1995.

ROSÁRIO, N.A.; VILELA, M.M.S. Quantitative skin prick tests and serum IgE antibodies in atopic asthmatics. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v.7, p.40-5, 1997.

SIMPSON, A.; SODERSTROM, L.; AHLSTEDT, S.; MURRAY, C.S.; WOODCOCK, A.; CUSTOVIC, A. IgE antibody quantification and the probability of wheeze in preschool children. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.116, p.744-9, 2005.

SMITH, T.F. Allergy testing in clinical practice. **Annals of Allergy**, v.68, p.293-302, 1992.

SOUZA, C.C.T. **Perfil de alérgenos inaláveis na poeira domiciliar de pacientes atópicos na cidade de Curitiba**. (Dissertação de Mestrado). Curitiba (Paraná): Universidade Federal do Paraná, 2013.

SPORIC, R.; PLATTS MILLS, T.A.E.; COGSWELL, J.J. Exposure to house dust mite allergen of children admitted to hospital with asthma. **Clinical and Experimental Allergy**, v.23, p.740-6, 1993.

SUZUKI, M.; ITOH, H.; SUGIYAMA, K.; TAKAGI, I.; NISHIMURA, J.; KATO, K.; MAMIYA, S.; BABA, S.; OHYA, Y.; ITOH, H.; YOKATA, A.; ITOH, M.; OHTA, N. Causative allergens of allergic rhinitis in Japan with special reference to silkworm moth allergen. **Allergy**, v.50, p.23-7, 1995.

TADANI, S.; TOMIOKA, S.; FURUKAWA, M. A study of bronchial asthma due to silkworm. **Japanese Journal of Allergology**, v.23, p.100-5, 1974.

TRIPPIA, S.M.G.; ROSARIO FILHO, N.A.; FERRARI, F.P. Aspectos clínicos da asma na criança: análise de 1009 pacientes de um ambulatório especializado. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, v.21, p. 75-82, 1998.

URAGODA, C.G.; WIJAKOON, P. Asthma in silk workers. **Journal of Social and Occupational Medicine**, v.41, p.140-2, 1991.

WANG, J.; GODBOLD, J.H.; SAMPSON, H.A. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.121, p.1219-24, 2008.

WANG, X.; ZHENG, S.; ZHANG, H. A study of occupational asthma and specific IgE in sericulture workers. **Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao**, v.16, p.323-7, 1994.

WIDE, L.; BENNICH, H.; JOHANSSON, S.G.O. Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. **The Lancet**, v.25, p.1105-7, 1967.

WILLIAMS, P.B.; BARNES, J.H.; SZEINBACH, S.L.; SULLIVAN, T.J. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: Establishing a standard. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.105, p.1221-30, 2000.

WILLIAMS, P.B.; DOLEN, W.K.; KOEPKE, J.W.; SELNER, J.J. Comparison of skin testing and three in vitro assays for specific IgE in the clinical evaluation of immediate hypersensitivity. **Annals of Allergy**, v.68, p.35-45, 1992.

WYNN, S.R.; SWANSON, M.C.; REED, C.E.; PENNY, N.D.; SHOWERS, W.B.; SMITH, J.M. Immunochemical quantitation, size distribution, and cross-reactivity of lepidoptera (moth) aeroallergens in southeastern Minnesota. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.82, p.47-54, 1988.

YOSHIDA, M.S. **Sirgaria e depósito de folhas. Boletim da Fiação de Seda.** Duartina: Bratac, 1994.

YUNGINGER, J.W.; AHLSTEDT, S.; EGGLESTON, P.A.; HOMBURGER, H.A.; NELSON, H.S.; OWNBY, D.R.; PLATTS-MILLS, T.A.E.; SAMPSON, H.A.; SICHERER, S.H.; WEINSTEIN, A.M.; WILLIAMS, P.B.; WOOD, R.A.; ZEIGER, R.S. Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.105, p.1077-84, 2000.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Versão 1 – 15 de Março de 2010

Título do Estudo: Avaliação da prevalência de reatividade cutânea ao extrato alergênico de mariposa e presença de IgE específica através do método ISAC em crianças com alergia respiratória.

Pesquisador: Dra. Laura Maria Lacerda Araujo

Responsável: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Rua Padre Camargo, nº 530

Sala 103 – 1º Andar

Curitiba – PR

CEP 80060-240

Tel.: (41) 3360-7938

Orientador: Dr. Nelson Augusto Rosário Filho

Pode ser que este documento denominado termo de consentimento livre e esclarecido contenha palavras que você não entenda. Por favor, peça ao médico ou à equipe do estudo para lhe explicar qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

INTRODUÇÃO

O(A) seu filho(a) está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa médica que prevê inclusão de 100 crianças. Antes de consentir a participação de seu(sua) filho(a), solicitamos que você leia ou peça a alguém que leia para você as informações contidas neste termo de consentimento.

Esta pesquisa visa avaliar o desenvolvimento de alergia à mariposa em crianças com diagnóstico de doenças respiratórias alérgicas.

O aparecimento de doenças alérgicas é resultado de uma complexa interação entre a hereditariedade do indivíduo e as condições ambientais, que podem determinar sensibilização.

A denominação atopia ou alergia refere-se a uma tendência pessoal e familiar de produzir anticorpos em resposta a estímulos como poeira, mofo, leite de vaca, pêlos de animais e outros. Os alérgicos tem sintomas de bronquite (chiado no peito e tosse), rinite (nariz trancado, espirros e coceira no nariz) ou conjuntivite (olhos vermelhos e coceira nos olhos). O conhecimento sobre os fatores desencadeantes dessas doenças é importante para a implementação de controle ambiental ao tratamento já utilizado, melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

A mariposa é um inseto muito comum em nosso meio e a investigação sobre sua relevância clínica como causadora das doenças acima citadas é interessante para instituir medidas de controle, que auxiliam no tratamento e nas conseqüências das doenças respiratórias alérgicas.

Se após a leitura deste termo, você decidir que concorda com a participação do(a) seu(sua) filho(a) neste estudo, será pedido que você assine e date este documento para confirmar que você recebeu todas as informações necessárias e pertinentes sobre o estudo e permitiu voluntariamente a participação do(a) seu(sua) filho(a). Você receberá uma via assinada e datada pela pessoa que lhe explicou este documento.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo é determinar a prevalência de alergia à mariposa em crianças com diagnóstico de doenças respiratórias alérgicas. Serão realizados testes cutâneos alérgicos e coleta de sangue por punção venosa nestes pacientes.

INFORMAÇÕES GERAIS

As crianças selecionadas para a inclusão neste estudo serão aquelas que já estão fazendo seguimento com a equipe responsável pelas doenças alérgicas.

Você está sendo convidado a consentir a participação de seu(sua) filho(a) no estudo porque o seu(sua) filho(a) se enquadra nas seguintes condições:

- Tem diagnóstico de asma, rinite e/ou conjuntivite alérgicas;
- Está sendo acompanhado pelo ambulatório de Alergia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Este estudo contará com a participação de 100 crianças e será realizado no Serviço de Alergia, Imunologia e Pneumologia Pediátrica da Universidade Federal do Paraná, com o intuito de fornecer dados para a tese de mestrado da pesquisadora responsável pelo estudo.

PROCEDIMENTOS A SEREM SEGUIDOS DURANTE O ESTUDO

Se você concordar com a participação do(a) seu(sua) filho(a) na pesquisa, assinando este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, a médica que já está fazendo o seguimento de seu(sua) filho(a) poderá utilizar-se dos dados coletados.

Na consulta serão verificados dados da história clínica e social pré e pós natal, como data de nascimento, gênero, idade gestacional, dieta alimentar, moradia, creche, animais de estimação, tabagismo/álcool/drogas de abuso, quarto da criança, doenças familiares como asma/bronquite, rinite alérgica ou imunodeficiência, história médica da mãe na gravidez. No exame da criança iremos avaliar peso, estatura, frequência respiratória, frequência cardíaca, pele, aparelho circulatório e cardíaco, etc.

Será feito teste cutâneo alérgico, denominado de *prick test*, que consiste no contato de uma gota de alérgenos de mariposa sobre a pele da criança, realizando em seguida uma discreta escarificação na pele e aguardando-se 15 minutos para leitura da reação. E posteriormente coleta de 5mL de sangue para avaliação laboratorial de alergia a mariposa.

POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

Os riscos associados à pesquisa se restringem aos procedimentos a serem realizados no estudo, como à coleta de sangue, podendo haver mancha roxa, inchaço ou dor no local da retirada de sangue. O teste na pele causa pequeno desconforto pela puntura na pele e no caso de haver reação, coceira no local que desaparece em poucos minutos.

Você será informado caso algum novo risco ou desconforto seja identificado durante o estudo.

POSSÍVEIS BENEFÍCIOS

Não há garantias de benefícios possíveis devido à participação do(a) seu(sua) filho(a) neste estudo. Entretanto, é garantido que seu(sua) filho(a) continue a receber acompanhamento médico periódico na ambulatório de Alergia do Hospital de Clínicas. E a participação de seu(sua) filho(a) juntamente com outras crianças contribuirá para reconhecer a presença e importância da sensibilização à mariposa nos pacientes com doenças alérgicas. Melhorando a forma de tratamento desses pacientes.

COMPENSAÇÃO POR PARTICIPAÇÃO E RESSARCIMENTO DE DESPESAS

Você não receberá pagamento pela participação do(a) seu(sua) filho(a) neste estudo.

A consulta, os procedimentos e exames laboratoriais programados para o estudo serão realizados sem nenhum custo para você.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA E DESISTÊNCIA DO ESTUDO

A participação neste estudo é voluntária. Você pode desistir da participação do(a) seu(sua) filho(a) no estudo a qualquer momento sem sofrer consequências ruins, ou perda de seus direitos. Se ocorrer a desistência da participação do(a) seu(sua) filho(a) no estudo, os dados de pesquisa obtidos antes da decisão ainda poderão ser utilizados dentro dos limites permitidos, mas nenhum dado novo será coletado

posteriormente.

O seu médico da pesquisa ou o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) podem determinar o término ou a interrupção da pesquisa a qualquer momento com ou sem seu consentimento. Neste caso, isto ocorrerá somente após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

Para perguntas relacionadas a esta pesquisa ou para relatar um problema de saúde relativo à pesquisa, você deve procurar:

Dr^a Laura Maria Lacerda Araujo

Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Rua Padre Camargo, nº 530 Sala 103 – 1º Andar

Curitiba-PR

CEP 80060-240

Tel.: (41) 3360-7938

Se você tiver dúvidas sobre os seus direitos e os direitos de seu(sua) filho(a) como sujeito da pesquisa, você poderá procurar:

Prof. Dr. Renato Tambara Filho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Tel.: (41) 3360-1896

ACESSO E USO DOS DADOS OBTIDOS DA PESQUISA E CONFIDENCIALIDADE

Uma lista contendo as informações de contato do(a) seu(sua) filho(a) incluindo o nome completo, endereço e número de telefone será mantida pelo médico do estudo separadamente dos demais dados do estudo. Os dados do estudo serão registrados em uma Ficha Clínica, ou seja, um documento confeccionado exclusivamente para coleta dos dados obtidos pela sua participação no estudo.

Todas as informações que forem coletadas e os registros da participação do(a) seu(sua) filho(a) neste estudo serão mantidos sob sigilo e confidencialidade. Todas as legislações, resoluções e códigos de ética brasileiros serão cumpridos no

decorrer deste estudo.

Seu médico do estudo solicita o seu consentimento, através deste documento, para que os seus registros médicos do(a) seu(sua) filho(a) relacionados ao estudo possam ser revisados pela equipe de seu médico do estudo, bem como por membros das autoridades regulatórias do Brasil, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (caso seja necessário) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa responsável. O objetivo é assegurar que o estudo esteja sendo conduzido corretamente.

As informações obtidas do(a) seu(sua) filho(a) serão combinadas com os resultados de outras crianças que também participam do estudo. Estas informações serão utilizadas de maneira que não seja possível identificar o(a) seu(sua) filho(a). Os registros capazes de identificá-los serão mantidos de maneira confidencial por seu médico conforme determinado por nossas leis e não serão colocados à disposição pública.

Os resultados do estudo poderão ser publicados ou utilizados também nos relatórios do estudo e apresentações científicas; entretanto a identidade do(a) seu(sua) filho(a) não será revelada em nenhum momento.

Você tem o direito de verificar e fazer uma cópia do registro do(a) seu(sua) filho(a) relacionado à pesquisa após a finalização da mesma. Você pode solicitar esses registros ao seu médico da pesquisa.

USOS POTENCIAIS DOS DADOS DO ESTUDO

Neste estudo, informações sobre a saúde pessoal do(a) seu(sua) filho(a) serão coletadas a partir dos registros médicos e/ou relatórios de pesquisa. Serão utilizadas nos relatórios do estudo para tese de mestrado da pesquisadora responsável ou para apresentações e publicações científicas; tais relatórios e publicações nunca identificarão o(a) seu(sua) filho(a) pelo nome.

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO

Eu li e entendi o conteúdo deste documento. Tive oportunidade de discutir o estudo com meu médico (ou alguém de sua equipe designado para este fim) e me sinto

suficientemente familiarizado com o estudo para dar o consentimento voluntário para a participação do(a) meu(minha) filho(a) neste estudo. Eu recebi uma cópia deste consentimento e minhas dúvidas foram esclarecidas de maneira satisfatória e em linguagem que posso facilmente entender.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os exames realizados e possíveis desconfortos, assim também como as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação do(a) meu(minha) filho(a) é isenta de despesas e que a qualquer momento eu posso retirar o consentimento da participação do(a) meu(minha) filho(a) no estudo sem prejuízos com relação ao acompanhamento médico a que ele(a) tem direito.

Concordo voluntariamente na participação do(a) meu(minha) filho(a) no Projeto de Pesquisa: “Avaliação da prevalência de reatividade cutânea ao extrato alergênico de mariposa e presença de IgE específica através do método ISAC em crianças com alergia respiratória.”

Nome do sujeito de pesquisa

Assinatura do sujeito de pesquisa

Data

Nome da Pessoa Responsável pela explicação do documento

Assinatura da Pessoa Responsável pela explicação do documento

Data

APÊNDICE 2 – TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

Título do Estudo: Avaliação da prevalência de reatividade cutânea ao extrato alergênico de mariposa e presença de IgE específica através do método ISAC em crianças com alergia respiratória.

Pesquisador: Dra. Laura Maria Lacerda Araujo

Responsável: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Rua Padre Camargo, nº 530

Sala 103 – 1º Andar

Curitiba – PR

CEP 80060-240

Tel.: (41) 3360-7938

Orientador: Dr. Nelson Augusto Rosário Filho

Pode ser que este documento chamado termo de assentimento livre e esclarecido contenha palavras que você não entenda. Por favor, peça ao médico ou à equipe do estudo para lhe explicar qualquer palavra ou informação que você não entenda claramente.

O que é a pesquisa?

Você está sendo convidado a fazer parte de uma pesquisa, juntamente com outras 100 crianças, que irá estudar a alergia à mariposa em pacientes que tem doenças alérgicas.

O que é alergia?

Alergia é uma tendência pessoal e familiar de produzir anticorpos (defesa) em resposta a estímulos como poeira, mofo, leite de vaca, pêlos de animais e outros. Os alérgicos têm sintomas de bronquite (chiado no peito e tosse), rinite (nariz trancado, espirros e coceira no nariz) ou conjuntivite (olhos vermelhos e coceira nos olhos).

Por que a mariposa?

A mariposa é um inseto muito comum em nosso meio e pode ser causadora das doenças acima citadas, portanto é interessante estudar a sua importância.

Quais os procedimentos a que você se submeterá?

Se os seus pais ou responsáveis aceitarem e você entender e concordar com este termo (documento), iremos realizar dois tipos de procedimento.

Primeiro, será feito um teste alérgico na pele do seu braço da seguinte forma: são colocadas algumas gotas de um líquido, em seguida usa-se um objeto parecido com uma agulha para raspar a pele e absorver o líquido. Poderão ocorrer coceira e vermelhidão no local do teste, que irão desaparecer após alguns minutos.

Depois, será coletado sangue de uma veia do seu braço. Poderá ocorrer: mancha roxa, inchaço ou dor no local da retirada de sangue.

Os resultados destes testes serão usados em um trabalho de mestrado e ficarão à sua disposição.

Se após a leitura deste termo, você decidir que concorda com a sua participação neste estudo, será pedido que você assine e date este documento para confirmar que você recebeu todas as informações necessárias sobre o estudo e permitiu voluntariamente a sua participação. Você receberá uma via assinada e datada pela pessoa que lhe explicou este documento.

Eu li e entendi este termo. Eu recebi uma cópia deste documento e minhas dúvidas foram tiradas pelo médico responsável.

Concordo com a minha participação no Projeto de Pesquisa: “Avaliação da prevalência de reatividade cutânea ao extrato alérgico de mariposa e presença de IgE específica através do método ISAC em crianças com alergia respiratória.”

Nome do sujeito de pesquisa

Assinatura do sujeito de pesquisa

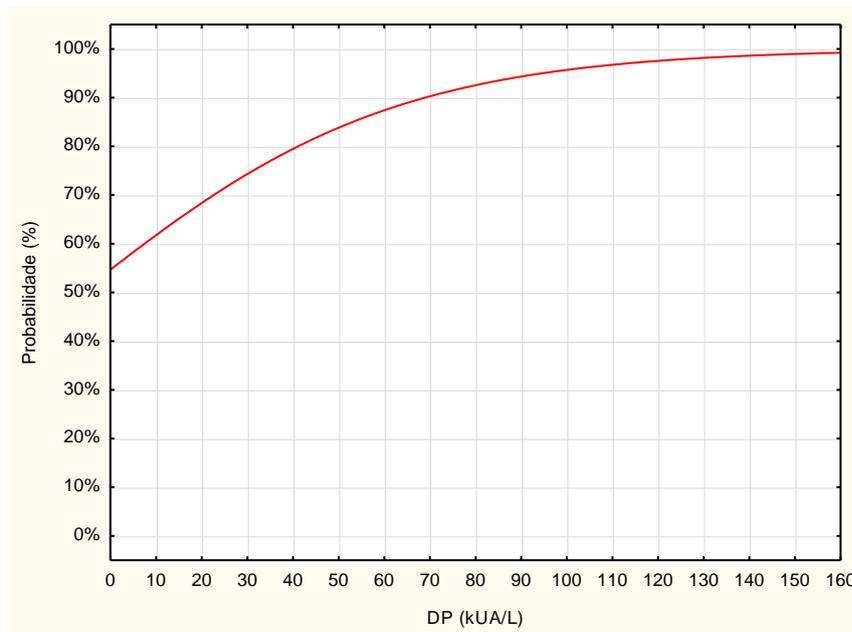
Data

Nome da Pessoa Responsável pela explicação do documento

Assinatura da Pessoa Responsável pela explicação do documento

Data

APÊNDICE 3 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA DP DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA DP

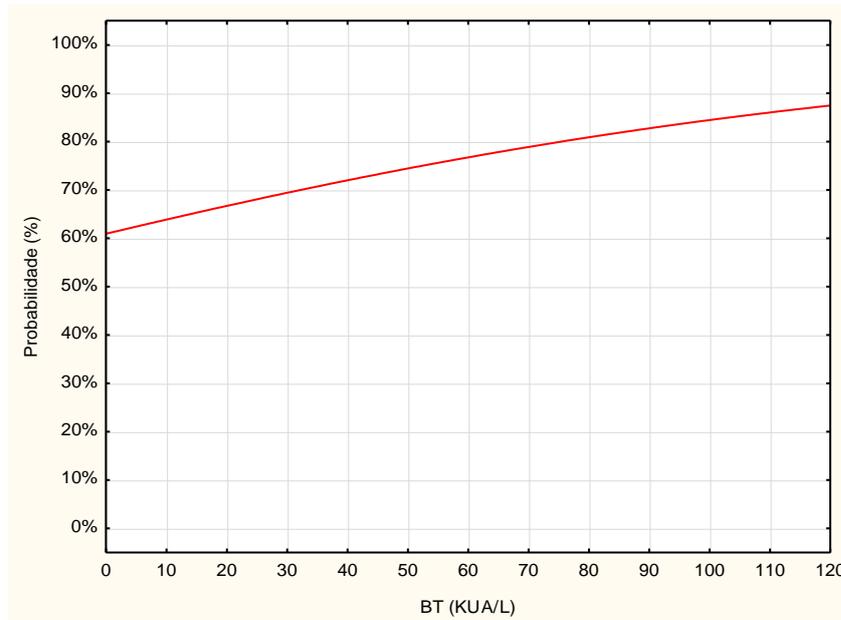


APÊNDICE 3 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA DP DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA DP

NOTA: Regressão logística univariada: $p < 0,001$

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 4 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA BT DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA BT

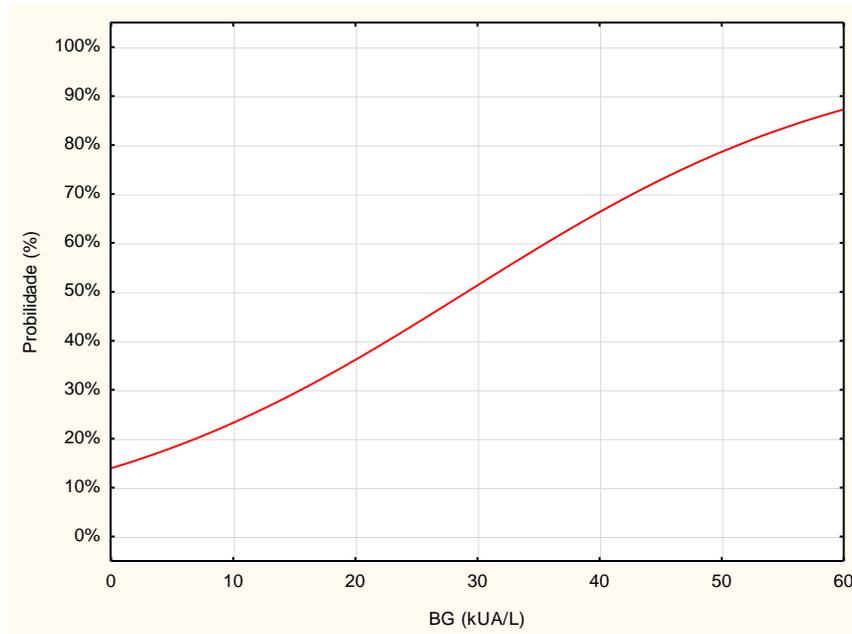


APÊNDICE 4 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA BT DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA BT

NOTA: Regressão logística univariada: $p = 0,04$

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 5 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA BG DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA BG

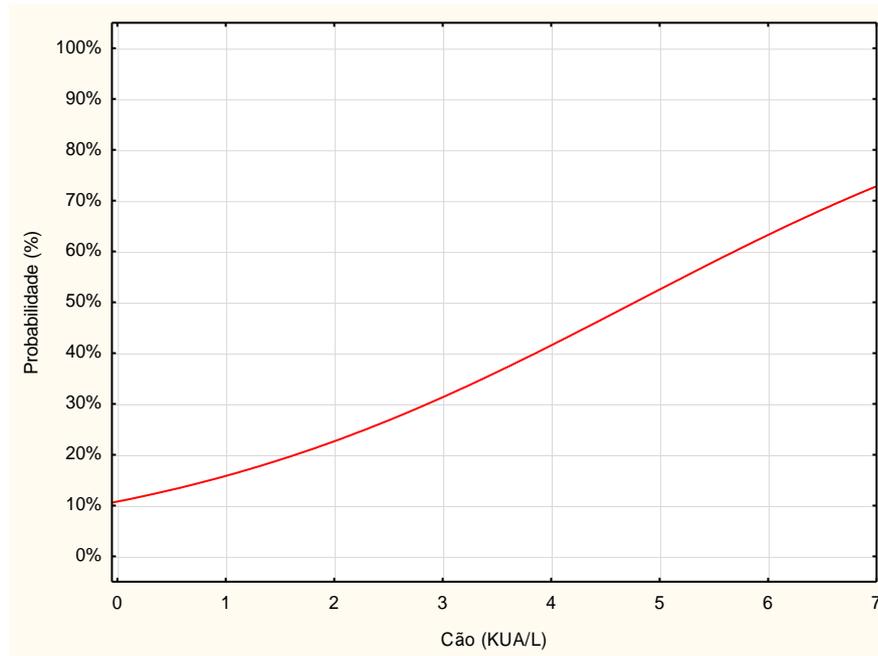


APÊNDICE 5 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA BG DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA BG

NOTA: Regressão logística univariada: $p = 0,01$

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 6 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA EPITÉLIO DE CÃO DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE CÃO

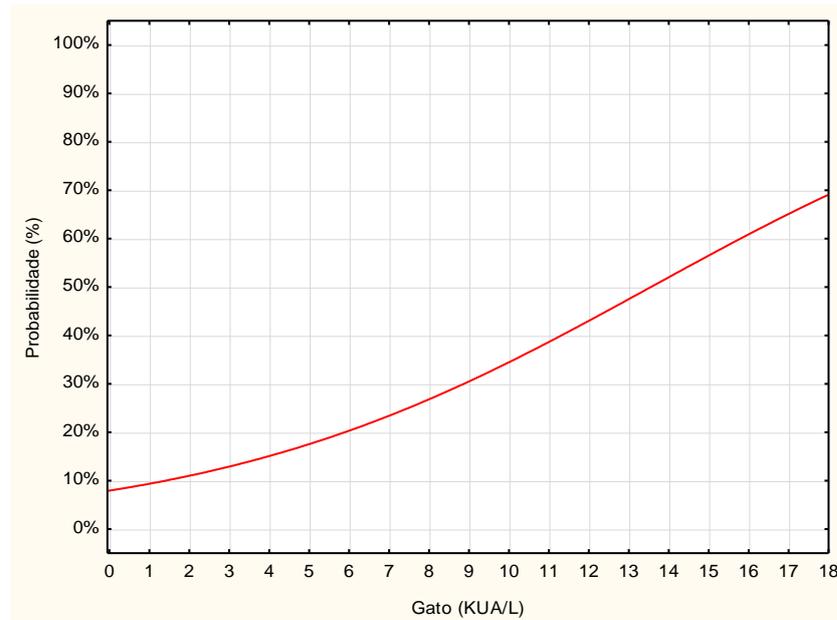


APÊNDICE 6 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA EPITÉLIO DE CÃO DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE SPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE CÃO

NOTA: Regressão logística univariada: $p = 0,02$

FONTE: O autor (2013)

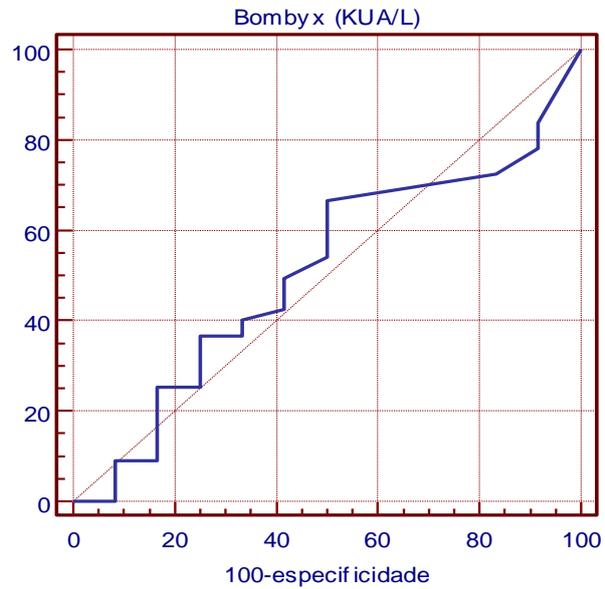
APÊNDICE 7 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA EPITÉLIO DE GATO DE ACORDO COM OS NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE GATO



APÊNDICE 7 – PROBABILIDADE DE POSITIVIDADE AO TCA PARA EPITÉLIO DE GATO E NÍVEIS SÉRICOS DE IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE GATO

NOTA: Regressão logística univariada: $p = 0,03$

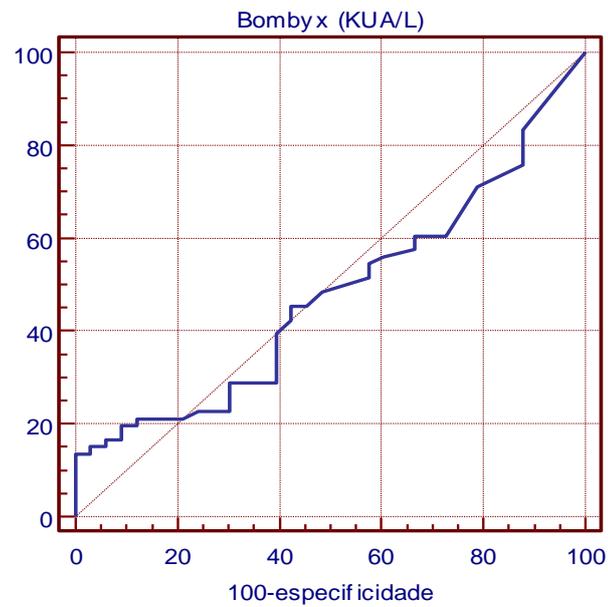
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 8 – CURVA ROC – IGE ESPECÍFICA PARA *BOMBYX MORI* E ASMAAPÊNDICE 8 – CURVA ROC – IGE ESPECÍFICA PARA *BOMBYX MORI* E ASMA

NOTA: AUC = 0,50 (ponto de corte = 0,3 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

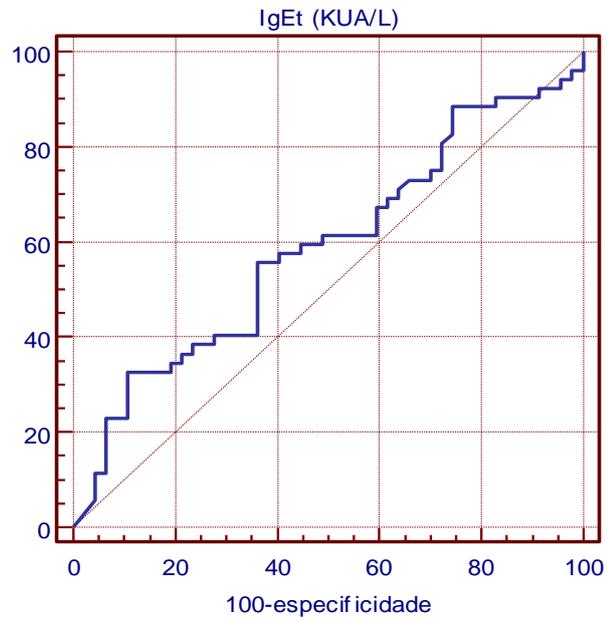
APÊNDICE 9 – CURVA ROC – IGE ESPECÍFICA PARA *BOMBYX MORI* E
SINTOMAS OCULARES



APÊNDICE 9 – CURVA ROC – IGE ESPECÍFICA PARA *BOMBYX MORI* E
SINTOMAS OCULARES

NOTA: AUC = 0,47 (ponto de corte = 28,9 KUA/L)

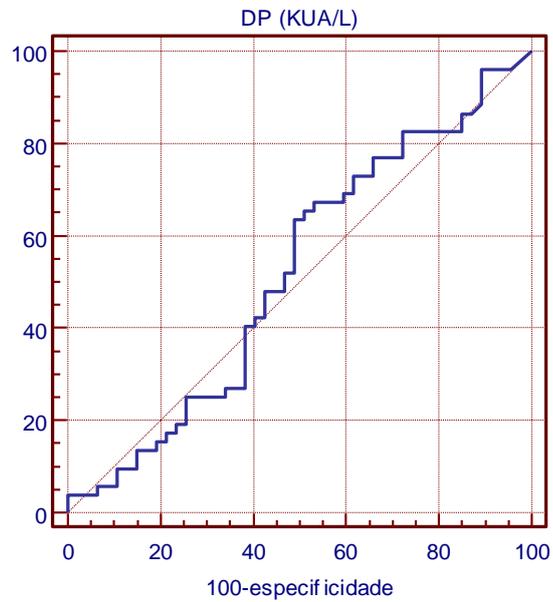
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 10 – CURVA ROC – IGE TOTAL E TCA PARA *BOMBYX MORI*

APÊNDICE 10 – CURVA ROC – IGE TOTAL E TCA PARA *BOMBYX MORI*

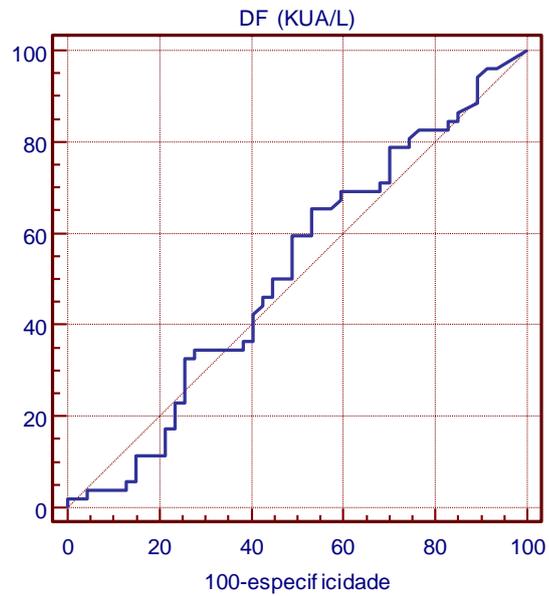
NOTA: AUC = 0,58 (ponto de corte = 2017,0 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 11 – CURVA ROC – DP E TCA PARA *BOMBYX MORI*APÊNDICE 11 – CURVA ROC – DP E TCA PARA *BOMBYX MORI*

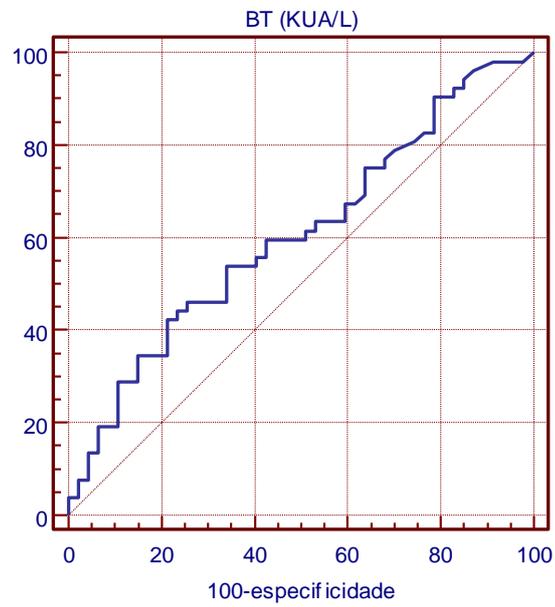
NOTA: AUC = 0,51 (ponto de corte = 62,6 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 12 – CURVA ROC – DF E TCA PARA *BOMBYX MORI*APÊNDICE 12 – CURVA ROC – DF E TCA PARA *BOMBYX MORI*

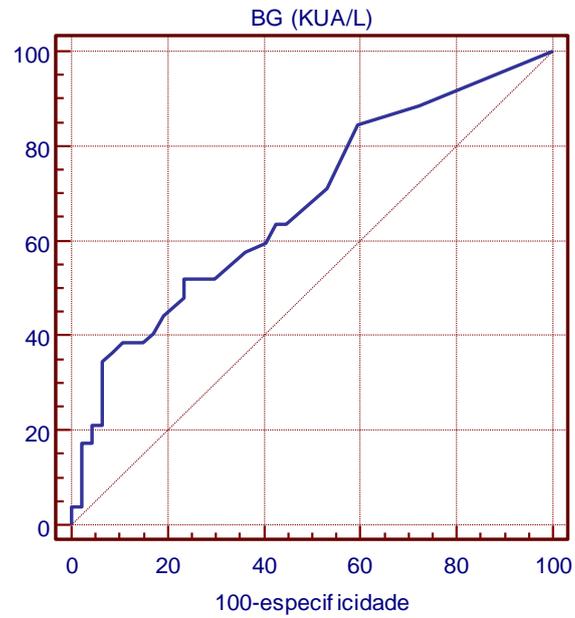
NOTA: AUC = 0,51 (ponto de corte = 30,9 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 13 – CURVA ROC – BT E TCA PARA *BOMBYX MORI*APÊNDICE 13 – CURVA ROC – BT E TCA PARA *BOMBYX MORI*

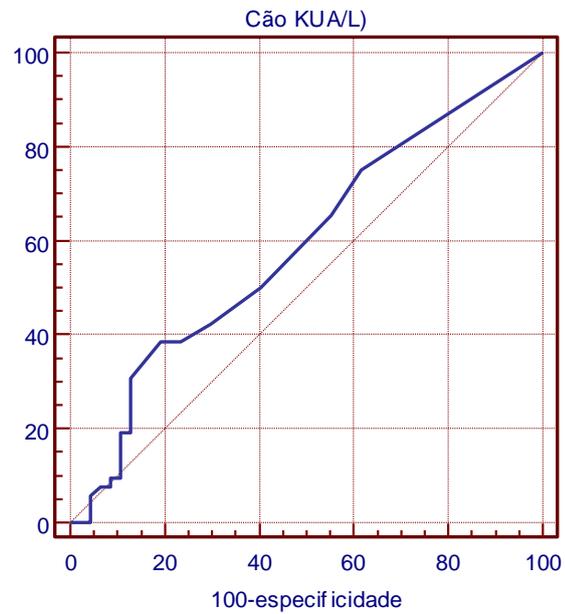
NOTA: AUC = 0,60 (ponto de corte = 33,7 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 14 – CURVA ROC – BG E TCA PARA *BOMBYX MORI*APÊNDICE 14 – CURVA ROC – BG E TCA PARA *BOMBYX MORI*

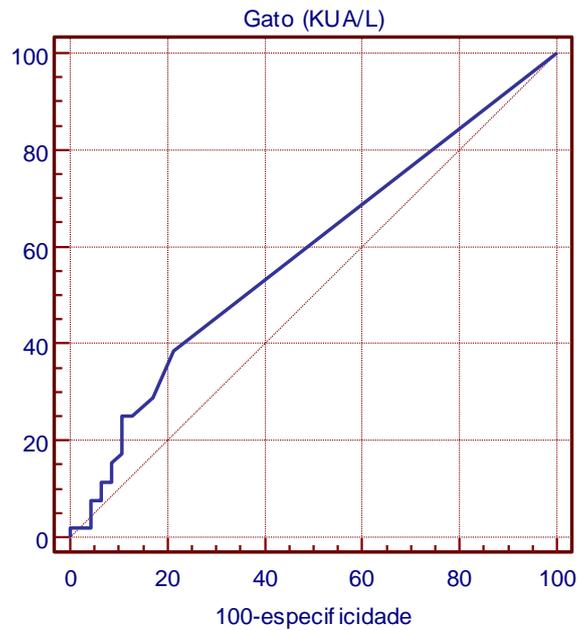
NOTA: AUC = 0,67 (ponto de corte = 0,8 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 15 – CURVA ROC – EPITÉLIO DE CÃO E TCA PARA *BOMBYX MORI*APÊNDICE 15 – CURVA ROC – EPITÉLIO DE CÃO E TCA PARA
BOMBYX MORI

NOTA: AUC = 0,58 (ponto de corte = 0,5 KUA/L)

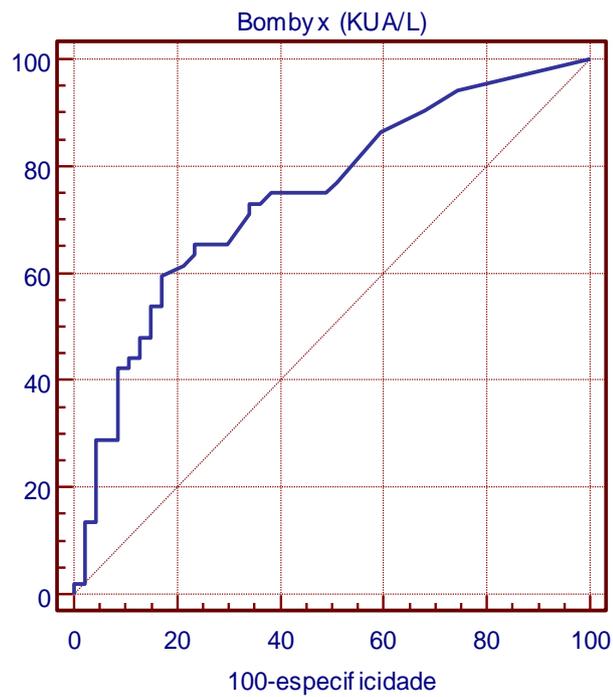
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 16 – CURVA ROC – EPITÉLIO DE GATO E TCA PARA *BOMBYX MORI*APÊNDICE 16 – CURVA ROC – EPITÉLIO DE GATO E TCA PARA
BOMBYX MORI

NOTA: AUC = 0,58 (ponto de corte = 0,0 KUA/L)

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 17 – CURVA ROC – IGE ESPECÍFICA PARA *BOMBYX MORI* E TCA
PARA *BOMBYX MORI*

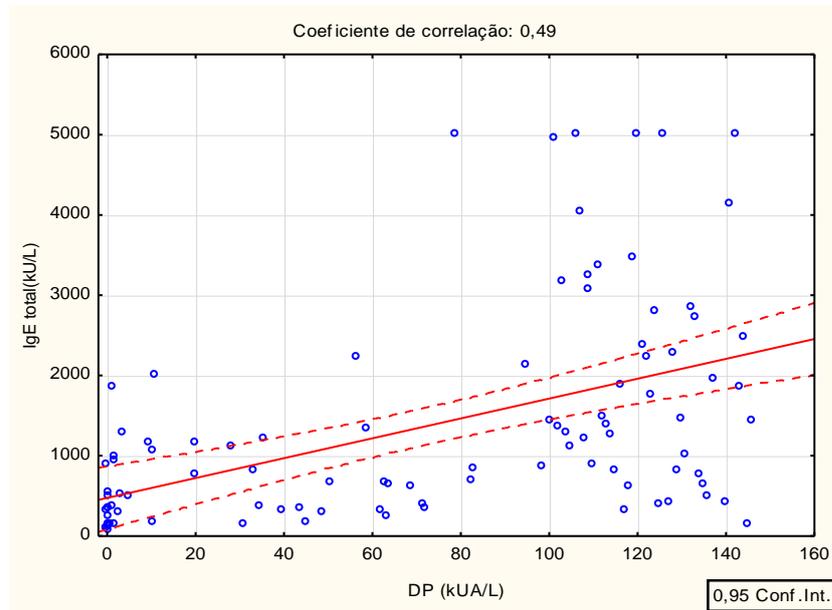


APÊNDICE 17 – CURVA ROC – IGE ESPECÍFICA PARA *BOMBYX MORI* E
TCA PARA *BOMBYX MORI*

NOTA: AUC = 0,74 (ponto de corte = 1,7 KUA/L)

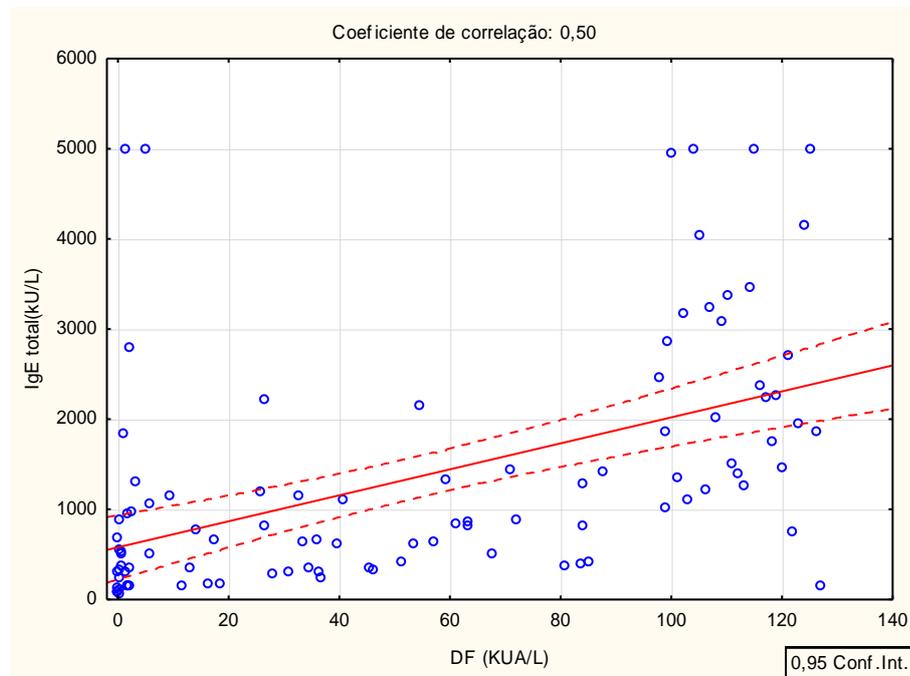
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 18 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA DP

APÊNDICE 18 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA
PARA DPNOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,49$

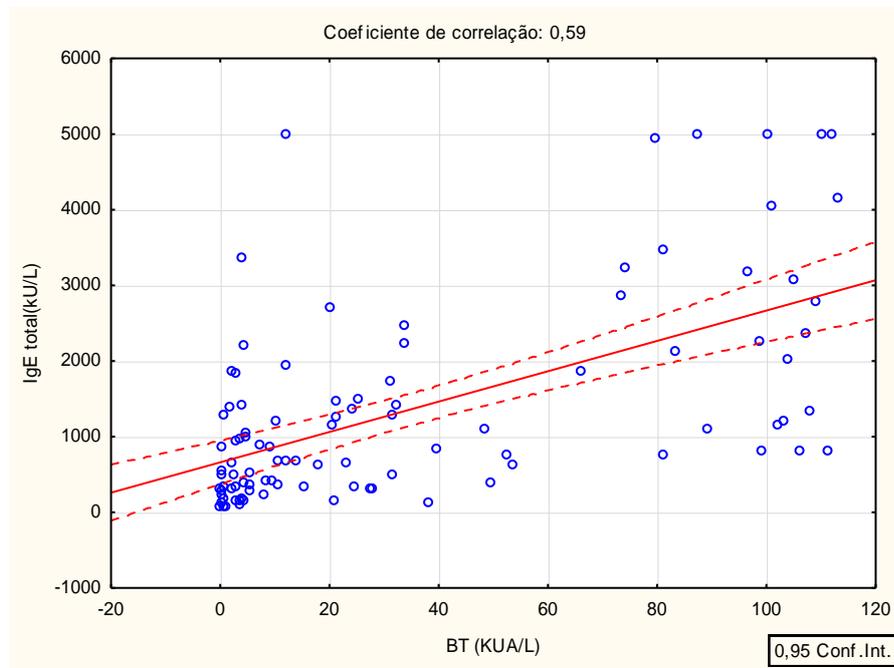
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 19 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA DF

APÊNDICE 19 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E ESPECÍFICA
PARA DFNOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,50$

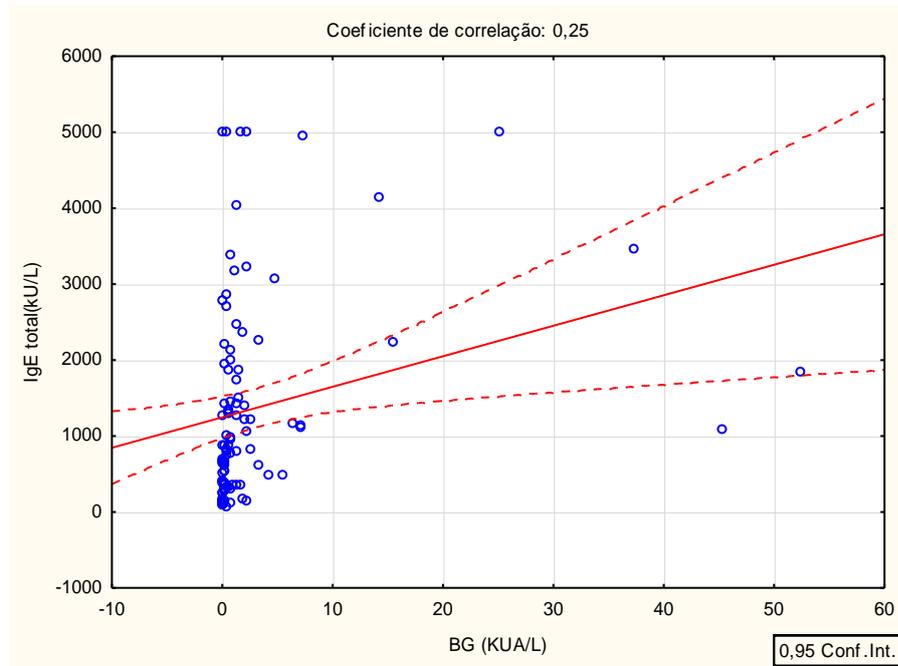
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 20– CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA BT

APÊNDICE 20 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA
PARA BTNOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,59$

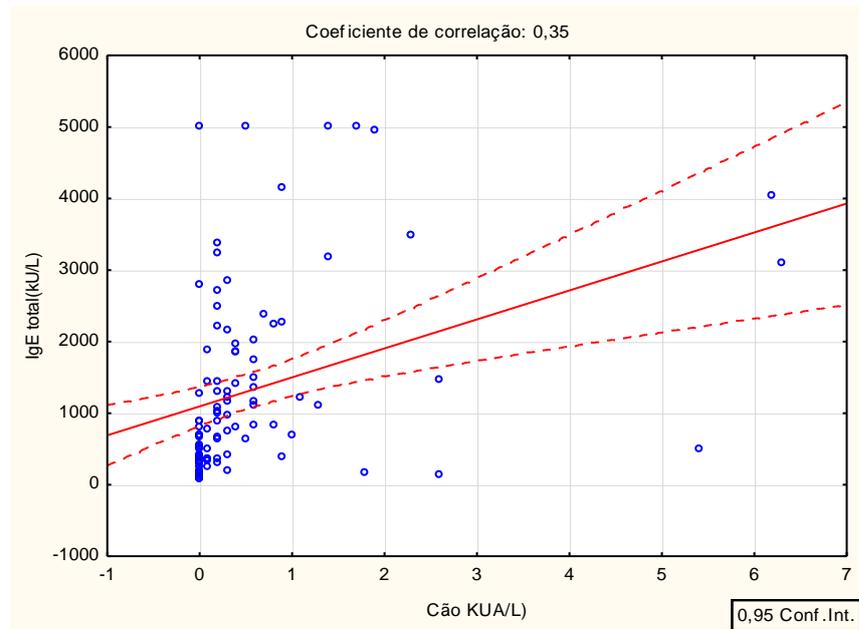
FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 21 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA BG

APÊNDICE 21 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA
PARA BGNOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,25$

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 22 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE CÃO

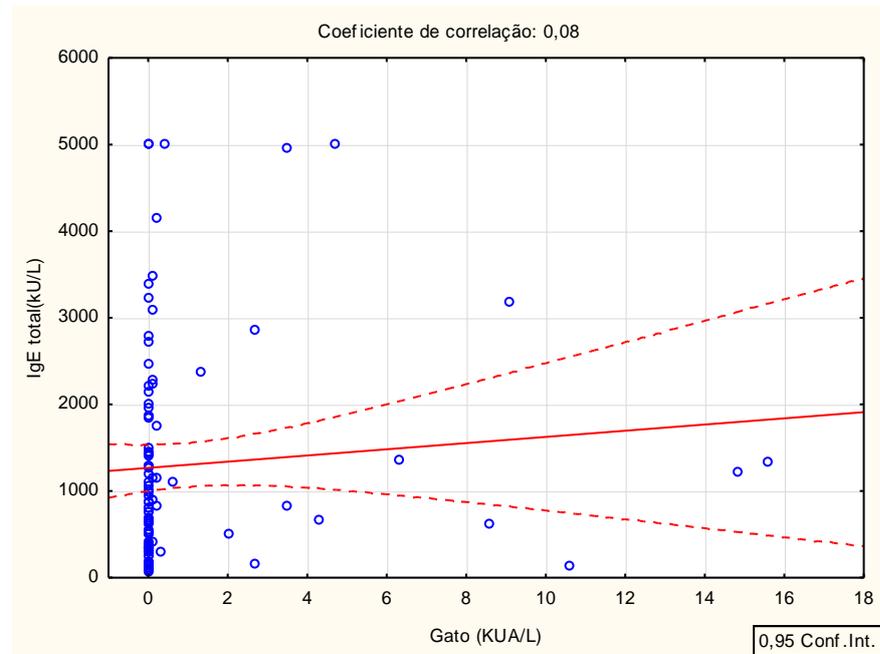


APÊNDICE 22 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE CÃO

NOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,35$

FONTE: O autor (2013)

APÊNDICE 23 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE GATO



APÊNDICE 23 – CORRELAÇÃO ENTRE IGE TOTAL E IGE ESPECÍFICA PARA EPITÉLIO DE GATO

NOTA: Correlação de Pearson: $r = 0,08$

FONTE: O autor (2013)

ANEXOS**ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS – HC-UFPR**

Curitiba, 19 de abril de 2010.

Ilmo (a) Sr. (a)
Laura Maria Lacerda Araujo
Neste

Prezada Pesquisadora:

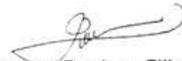
Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE REATIVIDADE CUTÂNEA AO EXTRATO ALERGÊNICO DE MARIPOSA E PRESENÇA DE IgE ESPECÍFICA ATRAVÉS DO MÉTIDO ISAC EM CRIANÇAS COM ALERGIA RESPIRATÓRIA", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 30 de março de 2010. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0060.0.208.000-10
Registro CEP: 2155.050/2010-03

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 19 de outubro de 2010.

Atenciosamente,



Renato Tambara Filho
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR

ANEXO 2 – CORRESPONDÊNCIA ENTRE DR. NELSON ROSÁRIO E DR. KINO
SOBRE A HIPÓTESE DE SENSIBILIZAÇÃO À MARIPOSA DO
BICHO-DA-SEDA NA POPULAÇÃO DE CURITIBA (1979)

CHEST DISEASE RESEARCH INSTITUTE,

KYOTO UNIVERSITY,
Sakyo-Ku (606) Kyoto, Japan

December 17, 1979

Dr. Nelson A. Rosario Filho
Rua Itupava, 509 Apt. 25
80.000 Curitiba - Parana, BRASIL

Dear Dr. Filho:

I am glad to have heard from you that my papers have met your eyes and you have payed attention to the emanations of moths and butterflies in your country.

Since it is very difficult to get sufficient amounts of each species of moths and butterflies for the allergen extraction, I am recently using the extract of silkworm moth wings, the theoretical basis of which was described in my paper(*J. Allergy and Clinical Immunology*, 64, 131, 1979).

I would like to send you the extract of silkworm wing (1.9 ml x 2 vials, 1:1,000(w/v)), which has already been sterilized.

I recommend you to dilute it to 1:10⁴ with sterile physiologic saline with 0.4% phenol and to inject 0.02 ml intracutaneously as you have already known.

Unfortunately, so far as I know, there seems not to be any company or laboratory which is making extracts of moth and butterfly. If anybody else besides me reports that inhalant insect allergy is more common than ever considered, it will promote some company to make the extract continuously.

I am looking forward hearing from you your results. If you send me patients' sera, I will be able to perform RAST for you.

Sincerely yours,



Toshiya Kino, M.D.
Chest Disease Research Institute,
Kyoto University,
Sakyo-ku, Kyoto, JAPAN