UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

CHRISTIAN SILVA SIMONETI

Estudo comparativo da sensibilização alérgica a animais de laboratório e sensibilização alérgica comum: efeitos sobre sintomas cutâneos, rinite, asma e hiperreatividade brônquica avaliada pelo teste de broncoprovocação com manitol

Ribeirão Preto
2018

CHRISTIAN SILVA SIMONETI

Estudo comparativo da sensibilização alérgica a animais de laboratório e sensibilização alérgica comum: efeitos sobre sintomas cutâneos, rinite, asma e hiperreatividade brônquica avaliada pelo teste de broncoprovocação com manitol

Versão Original

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica. Opção: Investigação Biomédica.

Orientador: Elcio dos Santos Oliveira Vianna

Ribeirão Preto

2018

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

Simoneti, Christian Silva

Estudo comparativo da sensibilização alérgica a animais de laboratório e sensibilização alérgica comum: efeitos sobre sintomas cutâneos, rinite, asma e hiperreatividade brônquica avaliada pelo teste de broncoprovocação com manitol. Ribeirão Preto, 2018.

138p. : il. ; 30 cm

Tese de doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Orientador: Vianna, Elcio dos Santos Oliveira.

1. Asma. 2. Hiperreatividade brônquica. 3. Epidemiologia. 4. Alergia ocupacional. 5. Rinite. 6. Trabalho. 7. Diagnóstico.

Nome: SIMONETI, Christian Silva

Título: Estudo comparativo da sensibilização alérgica a animais de laboratório e sensibilização alérgica comum: efeitos sobre sintomas cutâneos, rinite, asma e hiperreatividade brônquica avaliada pelo teste de broncoprovocação com manitol.

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof (a). Dr (a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof (a). Dr (a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof (a). Dr (a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof (a). Dr (a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof (a). Dr (a).: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pois sem Ele, nada seria possível. E aos meus pais, toda minha família e a minha noiva, Rafaela pelo companheirismo, amor, dedicação e compreensão em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

Amo muito todos vocês!

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Elcio dos Santos Oliveira Vianna, uma pessoa maravilhosa ao qual tive o privilégio de ser orientado nessa fase tão importante da minha vida. Sua sabedoria, ensinamentos e generosidade levarei para sempre comigo. Agradeço toda a paciência e compreensão que teve durante essa jornada e principalmente por ser muito mais que um orientador, por ser um grande professor e um valioso amigo.

Aos membros da banca, muito obrigado por participarem de um momento tão importante em minha vida.

À Profa. Dra. Érica Ferraz, minha primeira orientadora, pela enorme bondade, generosidade, ensinamentos e, sobretudo, por ter acreditado em mim. Você tem e para sempre terá parte em todas as minhas conquistas.

Ao Dr. Marcelo Bezerra de Menezes, obrigado pela valiosa colaboração na revisão crítica dos artigos publicados ao longo da minha pós-graduação.

A todas as amizades conquistadas nesses quase oito anos morando em Ribeirão Preto. Obrigado por compartilharmos momentos de alegria e diversão e por tornarem a pós-graduação um pouco mais leve.

A todos os funcionários da pneumologia, por toda a receptividade e amizade durante todo esse período, em especial a Luciana Cristina Straccia por todo carinho e amizade.

Aos voluntários do estudo, porque sem eles, tais dados não poderiam ser apresentados.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

SIMONETI, Christian Silva. **Estudo comparativo da sensibilização alérgica a animais de laboratório e sensibilização alérgica comum: efeitos sobre sintomas cutâneos, rinite, asma e hiperreatividade brônquica avaliada pelo teste de broncoprovocação com manitol**. 2018. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Trabalhadores expostos a animais de laboratório possuem elevado risco de desenvolvimento de reações alérgicas a proteínas animais, conhecidas como alergia a animais de laboratório. A constante eliminação de proteínas dos animais através da saliva, suor e principalmente pela urina faz com que os laboratórios e biotérios tornem-se lugares propícios para o desenvolvimento de reações alérgicas. É de conhecimento que a atopia, definida como teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (TCHI) a qualquer alérgeno, é um dos principais fatores de risco para alergia a animais de laboratório. Ao se estudar atopia como fator de risco, acreditamos que seria mais efetivo analisar os efeitos da sensibilização a alérgenos ocupacionais em comparação aos comuns, pois nossa hipótese é de que, assim, chegamos ao principal marcador de risco. O presente estudo teve como objetivo investigar a associação entre sensibilização alérgica ocupacional e a presença de desfechos clínicos. Especulamos que a contínua exposição ocupacional ao alérgeno ocupacional sensibilizante faça com que a sensibilização ocupacional seja melhor marcador de risco para tais reações alérgicas do que a sensibilização comum. O presente estudo transversal foi realizado em duas universidades brasileiras, onde trabalhadores e estudantes eram expostos a pelo menos um dos seguintes animais: rato, camundongo, cobaia, coelho e hamster. Os voluntários foram submetidos à TCHI, com 5 alérgenos denominados ocupacionais (alérgenos de rato, camundongo, cobaia, coelho e hamster) e 11 alérgenos chamados comuns (alérgenos de ácaros, gato, cachorro, baratas, fungos e mistura de gramíneas). Os indivíduos foram alocados em grupos de acordo com o resultado do TCHI: grupo não sensibilizado (TCHI negativo para todos os alérgenos testados), grupo sensibilização comum (TCHI positivo para qualquer alérgeno comum) e grupo sensibilização ocupacional (TCHI positivo para qualquer alérgeno ocupacional). Os indivíduos responderam questões sobre características da exposição a animais, sintomas, doenças alérgicas e respiratórias, e também foram submetidos à espirometria e teste de broncoprovocação com manitol para detectar hiperreatividade brônquica (HRB). Razão de prevalência (RP) foi estimada usando regressão de Poisson. Dados de 453 indivíduos foram

analisados. O grupo não sensibilizado foi composto por 237 indivíduos, o grupo sensibilização comum, composto por 142 indivíduos e o grupo sensibilização ocupacional, composto por 74 indivíduos. A sensibilização ocupacional associou-se ao aumento de risco para os seguintes desfechos: sintomas cutâneos (RP: 1,36; intervalo de confiança de 95% (IC95%): 1,01-1,85), sibilo (RP: 1,75; IC95%: 1,21-2,53), rinite (RP: 1,25; IC95%: 1,11-1,40), dispneia noturna (RP: 2,40; IC95%: 1,31-4,40), HRB (RP: 2,47; IC95%: 1,50-4,09) e asma confirmada (RP: 2,65; IC95%: 1,45-4,85), quando comparado ao grupo sensibilização comum. Além disso, a sobreposição de asma, rinite e sintomas cutâneos no mesmo indivíduo foi mais frequente no grupo sensibilização ocupacional com valor de 16,2% versus 4,9% do grupo sensibilização comum e 1,6% do grupo não sensibilizado ($p < 0,01$). Concluimos que a sensibilização alérgica ocupacional esteve associada com aumento de prevalência dos desfechos estudados, quando comparada à sensibilização comum, exceto para eczema ou alergia cutânea. Acreditamos que a realização periódica de TCHI com alérgenos ocupacionais poderia contribuir para detecção de risco elevado para doenças alérgicas e respiratórias entre trabalhadores expostos a animais de laboratório.

Palavras-chave: Asma. Hiperreatividade brônquica. Epidemiologia. Alergia ocupacional. Rinite. Trabalho. Diagnóstico.

ABSTRACT

SIMONETI, Christian Silva. **Comparison between allergic sensitization to laboratory animals and sensitization to common allergens: effects on skin symptoms, rhinitis, asthma, and bronchial hyperresponsiveness assessed by bronchial challenge test with mannitol.** 2018. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Workers exposed to laboratory animals have a high risk of developing allergic reactions to laboratory animals, known as laboratory animal allergy (LAA). Animals constantly eliminate proteins through saliva, sweat and especially urine, which makes laboratories and animal rooms favorable to the development of allergic reactions. We know that atopy, defined as a positive skin prick test (SPT) to any allergen, is a major risk factor for LAA. When considering atopy as a risk factor, we believe that it would be more effective to analyze the effects of occupational sensitization than the effects of common sensitization, thus our hypothesis is that occupational sensitization would lead to the main risk biomarker. The present study aimed to investigate the association between occupational allergic sensitization and the presence of clinical outcomes. We speculate that the continuous occupational exposure to the sensitizing occupational allergen will make occupational sensitization a better marker of risk than common sensitization. The present cross-sectional study was carried out in two Brazilian universities, where workers and students were exposed to at least one of the following animals: rat, mouse, guinea pig, rabbit and hamster. The volunteers were submitted to SPT with 5 occupational allergens (rat, mouse, guinea pig, rabbit and hamster allergens) and 11 common allergens (mite, cat, dog, cockroaches, fungi and grass mix allergens). Individuals were allocated into groups according to the outcome of SPT: non-sensitized group (negative SPT for all allergens tested), common sensitization group (positive SPT for any common allergen) and occupational sensitization group (positive SPT for any occupational allergen). Individuals answered questions about characteristics of animal exposure, symptoms, allergic and respiratory diseases, and also underwent spirometry and bronchial challenge test with mannitol to detect bronchial hyperresponsiveness (BHR). Prevalence ratio (PR) was estimated using Poisson regression. Data from 453 individuals were analyzed. Occupational sensitization was associated with an increased risk for skin symptoms (PR: 1.36, 95% confidence interval (95% CI: 1.01-1.85), wheezing (RP: 1.75, 95% CI: 1.21-2.53), rhinitis (RP: 1.25, 95% CI: 1.11-1.40), nocturnal dyspnoea (RP: 2.40, 95% CI: 1.31-4.40),

BHR (PR: 2.47, 95% CI: 1.50-4.09) and confirmed asthma (PR: 2.65; 95% CI: 1.45-4.85) when compared to the common sensitization group. In addition, overlap of asthma, rhinitis, and skin symptoms in the same individual was more frequent in the occupational sensitization group, 16.2% versus 4.9% in the common sensitization group and 1.6% in the non-sensitized group ($p < 0.01$). We concluded that occupational allergic sensitization was associated with an increased prevalence of all studied outcomes when compared to common sensitization, except for eczema or skin allergy. We believe that periodic SPT with occupational allergens could contribute to the detection of high risk for allergic and respiratory diseases among workers exposed to laboratory animals.

Keywords: Asthma. Bronchial hyperresponsiveness. Epidemiology. Occupational allergy. Rhinitis. Work. Diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Composição dos alérgenos comuns.	40
Figura 2: Composição dos alérgenos ocupacionais.	40
Figura 3: Distribuição dos voluntários.	50
Figura 4: Prevalência de sobreposição de asma confirmada, rinite e sintomas cutâneos entre indivíduos do grupo não sensibilizado, grupo sensibilização comum e grupo sensibilização ocupacional.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos voluntários	52
Tabela 2 - Características espirométricas e reatividade brônquica (PD15).....	53
Tabela 3 - Prevalência dos desfechos estudados	53
Tabela 4 - Prevalência de exposição aos animais de laboratório	55
Tabela 5 - Prevalência de sensibilização aos animais de laboratório	55
Tabela 6 - Prevalência de sensibilização aos alérgenos comuns	56
Tabela 7 - Número de testes cutâneos positivos entre os indivíduos do grupo sensibilização comum e grupo sensibilização ocupacional	56
Tabela 8 - Avaliação dos fatores de risco para asma confirmada	57
Tabela 9 - Avaliação dos fatores de risco para hiperreatividade brônquica.....	59
Tabela 10 - Avaliação dos fatores de risco para sibilo	60
Tabela 11 - Avaliação dos fatores de risco para dispneia noturna	61
Tabela 12 - Avaliação dos fatores de risco para rinite	62
Tabela 13 - Avaliação dos fatores de risco para sintomas cutâneos.....	63
Tabela 14 - Avaliação dos fatores de risco para eczema ou alergia cutânea.....	64

LISTA DE SIGLAS

ANOVA: Análise de variância

CVF: Capacidade vital forçada

ECRHS: *European Community Respiratory Health Survey*

EPI: Equipamento de proteção individual

EU/mg: Unidades de endotoxina por miligrama de poeira

FEF 25-75%: Fluxo expiratório forçado entre 25-75% da capacidade vital

HRB: Hiperreatividade brônquica

IC 95%: Intervalo de confiança de 95%

IgE: Imunoglobulina E

IgG: Imunoglobulina G

IgG4: Imunoglobulina G 4 (subclasse da imunoglobulina IgG)

KHz: Kiloherztz

LAA: *Laboratory animal allergy*

LAL: Lisado de amebócitos de *Limulus*

m²: Metro quadrado

mg: Miligramas

ml: Mililitro

mm: Milímetros

mm: milímetros

mmHg: Milímetros de mercúrio

Mus m1: *Mus musculus* 1

nm: Nanômetro

PD15: Dose provocadora da queda de 15% do VEF1

PFE: Pico de fluxo expiratório

Rat n1: *Rattus norvegicus* 1

RP: Razão de prevalência

TCHI: Teste cutâneo de hipersensibilidade imediata

UE: Unidades de endotoxina

UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas

USP-RP: Universidade de São Paulo *campus* Ribeirão Preto

VEF1: Volume expiratório forçado no primeiro segundo

VEF1/CVF: Volume expiratório forçado no primeiro segundo/capacidade vital forçada

VS: Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

μm : Micrômetro

μl : Microlitro

%: Por cento

$^{\circ}\text{C}$: Graus Celsius

$\geq$: Igual ou maior

$<$: Menor

$\pm$: Mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Alergia a animais de laboratório - Conceitos	19
1.2 Fatores de risco para doenças respiratórias e alérgicas a animais de laboratório	20
1.2.1 Atopia	21
1.3 Alergia a animais de laboratório - Prevalência	22
1.4 Alergia a animais de laboratório - História natural	23
1.5 Asma - Conceitos	24
1.6 Asma – Epidemiologia	26
1.7 Fisiopatologia da asma	27
1.8 Asma relacionada ao trabalho	29
2 JUSTIFICATIVA	32
3 OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	35
3.2 Objetivo específico	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 Desenho do estudo e seleção dos voluntários.....	37
4.2 Casuística.....	38
4.3 Critérios de inclusão	38
4.4 Critérios de exclusão	39
4.5 Procedimentos clínicos e avaliativos.....	39
4.5.1 Teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (TCHI)	39
4.5.2 Questionário.....	41
4.5.3 Espirometria.....	41
4.5.4 Teste de broncoprovocação	42
4.6 Coleta de poeira para quantificação de endotoxina.....	43
4.6.1 Coleta de poeira	43
4.6.2 Extração de endotoxina da poeira.....	43
4.6.3 Determinação dos níveis de endotoxina	44
4.7 Desfechos estudados.....	44
4.7.1 Asma confirmada.....	44
4.7.2 Hiperreatividade brônquica (HRB).....	45
4.7.3 Sibilos.....	45
4.7.4 Rinite.....	45

4.7.5 Sintomas cutâneos	45
4.7.6 Dispneia noturna	45
4.7.8 Eczema ou alergia cutânea.....	46
4.8 Variáveis de controle utilizadas na análise.....	46
4.8.1 Anos de exposição:	46
4.8.2 Jornada diária de trabalho	46
4.8.3 Animal de estimação.....	46
4.8.4 Tabagismo.....	46
4.8.5 Concentração de endotoxina.....	47
4.8.6 Sexo	47
4.8.7 Idade.....	47
4.9 Análise estatística	47
5 RESULTADOS	49
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÃO.....	76
REFERÊNCIAS	78
ANEXOS	90
Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - HCFMRP - USP.....	91
Anexo 2. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP	92
Anexo 3. Questionário.....	94
Anexo 4. Artigo publicado no periódico Clinical & Experimental Allergy.....	107
Anexo 5. Artigo aceito para publicação no periódico Brazilian Journal of Medical and Research.....	116
Anexo 6. Artigo submetido para avaliação no periódico Revista Brasileira de Saúde Ocupacional.	127

1 INTRODUÇÃO

1.1 Alergia a animais de laboratório - Conceitos

Trabalhadores expostos a animais de laboratório possuem elevado risco de desenvolvimento de reações alérgicas, condição conhecida como alergia a animais de laboratório (AOYAMA et al., 1992) e caracterizada por sintomas de urticária, conjuntivite, rinite e asma (HUNSKAAR; FOSSE, 1990). Esse grupo de trabalhadores está exposto a alérgenos dos roedores, que são causas comuns de sensibilização e aumentam os riscos de doenças (JEAL; JONES, 2010). Além disso, o risco torna-se mais relevante visto que, após a sensibilização ocupacional, exposições a concentrações muito pequenas ao agente sensibilizante podem induzir asma (TARLO; LEMIERE, 2014).

Sensibilizações alérgicas a rato e camundongo são as mais frequentemente observadas entre indivíduos expostos a animais de laboratório (SIMONETI et al., 2016). Tal característica é principalmente relacionada ao fato desses animais serem os mais comumente utilizados nos laboratórios de pesquisa (FERRAZ et al., 2013), e não ao fato de que rato e camundongo sejam mais alergênicos, uma vez que a prevalência de sintomas entre indivíduos expostos a rato e camundongo é similar à prevalência de sintomas entre indivíduos expostos a cobaia, coelho e hamster (AOYAMA et al., 1992).

O primeiro relato de alergia a camundongos em trabalhadores de um laboratório foi publicado por Sorrell e Gottesman (1957). Rajka (1961) descreveu uma série de 10 pacientes com alergia à cobaia, rato, coelho e camundongo. Contudo, a alta prevalência dessa condição passou a ser evidenciada a partir de estudos transversais epidemiológicos conduzidos na década de 1980 (COCKCROFT et al., 1981; GROSS, 1980; SCHUMACHER; TAIT; HOLMES, 1981).

Alergia a animais de laboratório é uma forma de doença alérgica ocupacional (BUSH; STAVE, 2003) causada por reações de hipersensibilidade imediata, associada com produção de IgE específica aos alérgenos animais (JEAL; JONES, 2010). Células apresentadoras de antígenos presentes nos pulmões e na pele capturam os alérgenos dos animais, estimulando a produção de citocinas e replicação de células T, levando a uma resposta de leucotrienos e histamina. Essa reação causará edema, constrição da musculatura da via aérea, aumento da secreção de muco e estimulação nervosa (WOLFFLE; BUSH, 2001).

Alérgenos de roedores podem ser encontrados no pelo, saliva, urina e soro dos animais, sendo a urina a principal via de exposição das proteínas alergênicas de rato e camundongo (TAYLOR; LONGBOTTOM; PEPYS, 1977). Os principais alérgenos do rato são Rat n 1A (com peso molecular de 20 a 21 kDa) e Rat n 1B (com peso molecular de 16 a 17 kDa), que são alérgenos variantes de globulinas alfa 2. Enquanto o principal alérgeno de camundongo é uma pré-albumina chamada de Mus m1 (com peso molecular de 19 kDa) (WOOD, 2001). Tanto Mus m1 como Rat n1 são produzidas no fígado, sob controle de hormônios androgênicos. Camundongos machos adultos liberam até 4 vezes mais alérgeno Mus m1, do que camundongos fêmeas. Assim como o alérgeno Rat n1 é liberado em maiores quantidades por ratos machos adultos (JONES, 2015).

No ambiente de trabalho, o contato com os alérgenos ocorre durante atividades rotineiras, tais como, transporte de animais, alimentação, sacrifícios, cirurgias, coleta de tecidos, inoculação, contato com os fluidos corporais e limpeza de materiais e de ambientes (HARRIES; CROMWELL, 1982). Além disso, os alérgenos podem ser encontrados depositados na superfície de materiais e equipamentos ou em suspensão no ar. Todas essas características fazem com que laboratórios de pesquisa e biotérios tornem-se locais propícios para o desenvolvimento de alergias (BUSH; WOOD; EGGLESTON, 1998; TAYLOR; LONGBOTTOM; PEPYS, 1977).

1.2 Fatores de risco para doenças respiratórias e alérgicas a animais de laboratório

Com o aumento do interesse pelas alergias a animais de laboratório, diversos estudos foram conduzidos a partir dos anos 80, para investigar seus principais fatores de risco. Entre estes, estão: natureza e intensidade da exposição aos animais (KRUIZE et al., 1997; PENG et al., 2011; SLOVAK; HILL, 1987), atopia (HEEDERIK et al., 1999; HOLLANDER; DOEKES; HEEDERIK, 1996; HOLLANDER; HEEDERIK; DOEKES, 1997; KRAKOWIAK; SZULC; GORSKI, 1997), sensibilização prévia a gato e cachorro (BLAND et al., 1986; BRYANT et al. 1995; CULLINAN et al., 1994; HOLLANDER, DOEKES; HEEDERIK, 1996; RENSTROM et al., 2001), tabagismo (CULLINAN et al., 1999; HUNSKAAR; FOSSE, 1990; KRAKOWIAK; SZULC; GORSKI, 1997; VENABLES et al., 1988), exposição a outros irritantes (CULLINAN et al., 1994), estágio com animais de laboratório (GAUTRIN et al., 2001), hiperreatividade à metacolina (GAUTRIN et al., 2001),

sexo masculino (HOLLANDER et al., 1999), IgE pré-exposição > 100 kU/l (KROP et al., 2009; RENSTROM et al., 2001), sintomas respiratórios (AOYAMA et al., 1992) e trabalho com roedores machos (RENSTROM et al., 2001).

1.2.1 Atopia

A atopia é considerada o principal fator de risco intrínseco para o desenvolvimento de reações alérgicas a animais de laboratório (CORRADI; FERDENZI; MUTTI, 2012). Pessoas que apresentam predisposição a reações IgE são chamadas de atópicas (CORRADI; FERDENZI; MUTTI, 2012; HUNSKAAR; FOSSE, 1990). Na prática clínica, existem ao menos três conceitos distintos para atopia. Primeiro, atopia pode ser definida pela história pessoal. Segundo, atopia pode ser definida com base na história familiar. Terceiro, atopia pode ser definida com base em exames laboratoriais, como por exemplo, o teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (TCHI), realizada com um grupo padronizado de alérgenos (HUNSKAAR; FOSSE, 1990). A maior parte dos estudos publicados nesta área definem atopia como TCHI positivo a qualquer alérgeno testado (JEAL et al., 2003; JEAL et al., 2006; JEAL, et al., 2009; JONES et al., 2014a; JONES et al., 2014b; NIEUWENHUIJSEN et al., 2003; NGUYEN et al., 2003; PACHECO et al., 2010; PALMBERG et al., 2015).

Indivíduos atópicos são de 3 a 10 vezes mais propensos a sensibilizar-se aos alérgenos de origem animal, quando comparados aos indivíduos não atópicos (RENSTROM et al., 2001; HOLLANDER; DOEKES; HEEDERIK, 1996). Indivíduos atópicos desenvolvem mais cedo sintomas de alergia a animais de laboratório do que os indivíduos não atópicos (BOTHAM; DAVIES; TEASDALE, 1987) e, por fim, atópicos desenvolvem formas mais graves de alergia a animais de laboratório, quando comparados aos não atópicos (CULLINAN et al., 1994; HUNSKAAR; FOSSE, 1990).

Claramente, atopia é um importante fator de risco para reações alérgicas a animais de laboratório como já fora apresentando por vários estudos. Entretanto, ao comparar indivíduos atópicos com indivíduos não atópicos, não é de se estranhar que os indivíduos atópicos sejam mais alérgicos e propensos a sintomas, como demonstrados em vários estudos (HEEDERIK et al., 1999; JEAL et al. 2006; KRAKOWIAK; SZULC; GORSKI, 1997; KROP et al., 2009; NICHOLSON, P. J. et al., 2010; NIEUWENHUIJSEN et al., 2003; PACHECO, K. A. et al. 2010; PALMBERG et al., 2015). Dessa forma, novos estudos focando a atopia devem ser

realizados com uma metodologia mais aperfeiçoada que permita avanços do conhecimento, como propusemos nessa tese.

1.3 Alergia a animais de laboratório - Prevalência

A prevalência de alergia a animais de laboratório é estimada entre 11% a 44% (BUSH; STAVE, 2003). Essa ampla variação da prevalência é devida aos diferentes critérios para sua definição, baseada em exames laboratoriais ou em relato de sintomas (ACTON; MCCAULEY, 2007). Os sintomas mais prevalentes entre esses indivíduos são a rinite e a conjuntivite alérgica, observadas em até 80% dos indivíduos com alergia aos animais de laboratório, enquanto reações cutâneas podem ser observadas em quase 40% desses indivíduos (CORRADI; FERDENZI; MUTTI, 2012). Dos indivíduos que tornam-se sintomáticos, 4% a 22% podem desenvolver asma relacionada ao trabalho, que pode persistir mesmo com a cessação da exposição (BUSH; STAVE, 2003).

Entre veterinários e estudantes de veterinária observou-se que 36% dos indivíduos foram sensibilizados a pelo menos 1 alérgeno animal (5% sensibilizado a pássaros, 14% sensibilizados a mamíferos e 17% sensibilizados a mamíferos e pássaros). Entre os voluntários, 52% relataram sintomas associados com a exposição aos animais. Entre os sintomáticos, rinite foi relatada por 37,0% dos indivíduos, asma foi relatada por 34,0% dos indivíduos, alergia cutânea relatada por 29,0% dos indivíduos e conjuntivite relatada por 33,0% dos indivíduos (MOGHTADERI; FARJADIAN; ABBASZADEH HASIRI, 2014).

Muzembo et al. (2014) mostraram que entre trabalhadores com sintomas relacionados a exposição a animais de laboratório, 14,0% relataram sintomas nasais e oftalmológicos, 8,2% relataram sintomas cutâneos e 3,7% reportaram sintomas de asma. Nosso grupo demonstrou prevalência de 2,8% de asma relacionada ao trabalho (definida por TCHI positivo a pelo menos 1 animal de laboratório associado a sintomas de asma), enquanto a prevalência de sensibilização a animais de laboratório foi de 16,3% (FERRAZ et al. 2013).

Krop et al. (2009) apresentaram incidência de sensibilização aos animais de laboratório de 10,7 casos novos por 100 pessoas-ano. A incidência de sensibilização a rato foi de 8,7 casos novos por 100 pessoas-ano e incidência de 5,8 casos novos por 100 pessoas-ano de sensibilização a camundongo. Elliott et al. (2005) demonstraram incidência de sintomas de alergia a animais de laboratório de 2,26 casos novos por 100 pessoas-ano. Dos indivíduos que

tornaram-se sintomáticos, 87,8% relatam sintomas de rinite, 20,5% relataram erupções cutâneas e 18,3% relataram sintomas de asma.

Os resultados referentes à prevalência e incidência de sintomas devido exposição aos animais de laboratório podem ser subestimados, visto que trabalhadores sintomáticos ou mais sensíveis são mais susceptíveis a abandonar o emprego pelo risco que a exposição ocupacional traz (LE MOUAL et al., 2008). Sendo assim, existe o risco de uma seleção natural no ambiente de trabalho, onde os estudos tenderão a avaliar os indivíduos mais saudáveis.

Além disso, a prevalência e incidência de asma pode ser novamente subestimada ou talvez supervalorizada, dependendo da percepção dos sintomas do próprio indivíduo, uma vez que alguns estudos fazem a detecção de asma por meio de relato de sintomas, ao invés de utilizarem medidas diretas para avaliação da função pulmonar.

1.4 Alergia a animais de laboratório - História natural

Estudos transversais e longitudinais têm sido conduzidos com indivíduos expostos a animais de laboratório com o objetivo de investigar possíveis períodos de latência para o desenvolvimento de sintomas alérgicos relacionados à exposição. Gross (1980) investigou um grupo de 399 trabalhadores com exposição regular a animais de laboratório e, desses, 59 apresentaram sintomas de alergia aos animais de laboratório. O autor observou que entre os voluntários sintomáticos, a maior parte relatou que os sintomas iniciaram com menos de 6 meses após o início da exposição. Nenhum voluntário sintomático relatou que seus sintomas iniciaram depois de 4 anos ou mais após o início da exposição. Além disso, verificou-se que entre indivíduos sintomáticos, sintomas nasais foram relatados por todos os 59 voluntários e sintomas torácicos relatados por 30 voluntários, sendo que os sintomas nasais surgiam antes ou ao mesmo tempo dos sintomas torácicos, mas nunca depois dos sintomas torácicos.

Aoyama et al. (1992) conduziram um estudo no Japão onde foram avaliados 5.641 trabalhadores que apresentavam contato com animais de laboratório. Entre os trabalhadores sintomáticos, cerca de 70% relataram que seus primeiros sintomas de alergia a animais de laboratório iniciaram nos três primeiros anos de exposição. Desses, 33% relataram que seus sintomas iniciaram-se no primeiro ano de exposição, sendo que os sintomas respiratórios foram proporcionalmente os mais relatados no primeiro ano de exposição.

Gautrin et al. (2001) observaram que 7,5% dos aprendizes em tecnologia de saúde animal desenvolveram provável asma ocupacional, definida por sensibilização cutânea e hiperreatividade brônquica (avaliada por metacolina) no período do 32º ao 44º mês de exposição. Ainda com relação à sensibilização ao animal, Palmberg et al. (2015) mostraram que 19% dos indivíduos tornaram-se sensibilizados durante período de 2 anos. Enquanto Moghtaderi, Farjadian e Abbaszadeh Hasiri (2014) demonstraram que a sensibilização aos alérgenos dos animais não diferiu significativamente entre indivíduos expostos entre 2 e 5 anos, 6 e 10 anos e acima de 10 anos de exposição.

1.5 Asma - Conceitos

Asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, caracterizada por sintomas de sibilos, dispneia, aperto no peito, tosse e limitação variável do fluxo aéreo (GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA - GINA, 2017). Tais características são reflexo da hiperreatividade brônquica, com subsequente contração da musculatura lisa da via aérea, e da inflamação, com fibrose subepitelial, edema de via aérea e hipersecreção de muco (LAMBRECHT; HAMMAD, 2015). Tanto a limitação do fluxo aéreo, como os sintomas podem variar ao longo do tempo e também variar em sua intensidade. Tais variações são geralmente desencadeadas por mudança no clima, exercício, infecção respiratória viral e exposição a irritantes ou alérgenos. Podendo a limitação do fluxo aéreo e os sintomas serem resolvidos espontaneamente ou após uso de medicação (GINA, 2017).

Existem evidências de que os fatores predisponentes da asma sejam estabelecidos a partir da fase intra-uterina e entre o terceiro e quinto ano de vida (WARNER et al., 1998). Fatores de risco para asma podem ser divididos em fatores intrínsecos e fatores ambientais. Exemplos de fatores intrínsecos são predisposição a atopia, a hiperreatividade brônquica, obesidade e sexo. Os fatores ambientais são aqueles agentes encontrados no ambiente, entre eles, os alérgenos (que podem ser de origem vegetal, animal, fungos), infecções (predominantemente virais), sensibilizantes ocupacionais (gases, vapores, agentes químicos e fumaças), exposição ao tabaco, tanto de forma ativa quanto passiva, poluição do ar e alimentação (TOSKALA; KENNEDY, 2015). Outro exemplo de fator risco para asma, presente no ambiente, é a endotoxina (THORNE et al., 2005).

O diagnóstico da asma é realizado por meio da avaliação clínica e por exames. A avaliação clínica compõe item importante na avaliação do paciente asmático, onde serão questionadas algumas características, como por exemplo, a presença e o padrão dos sintomas respiratórios, juntamente com os agentes que desencadeiam os sintomas. A avaliação clínica do paciente asmático no período intercrise geralmente é normal, mas algumas características podem ser observadas, entre elas, a hiperinsuflação e algum sibilos (MULHOLLAND; AINSWORTH; PILLARISSETTI, 2017). Entre os exames que contribuem para o diagnóstico da asma estão a espirometria, teste de broncoprovocação e a medida do pico de fluxo expiratório (PAPI et al. 2017).

O tratamento medicamentoso para asma pode ser classificado em manutenção e de alívio. A medicação de manutenção é utilizada diariamente pelo paciente para que o mesmo mantenha a asma clinicamente estável. Os medicamentos para manutenção são: corticoides inalatórios e sistêmicos, beta2-agonistas inalatórios de ação prolongada em combinação com corticóides inalatórios, antagonistas de receptores de leucotrienos, cromonas, teofilinas, anticolinérgico de ação prolongada, anticorpo monoclonal humanizado anti-IgE e anti-IL5. Atualmente, os corticóides inalatórios são os medicamentos mais eficazes para o controle da asma. As medicações de alívio são utilizadas apenas em momentos de crise, para aliviar sintomas e reverter rapidamente o broncoespasmo. Exemplos de medicamentos para alívio são: beta2-agonistas inalatórios de ação curta e, excepcionalmente, teofilinas de ação curta e anticolinérgicos inalatórios (CHINI et al. 2014; GINA, 2017; SCHOFIELD, 2014).

O controle ambiental e dos fatores agravantes é outro componente do tratamento do paciente asmático. Nessa etapa, busca-se identificar e reduzir a exposição a agentes que possam intensificar os sintomas ou levar à exacerbação da doença. Exemplos desses agentes são: alérgenos, fumaças, tabagismo, alimentos e medicações. Uma vez que o paciente passa a ter a asma controlada, o mesmo torna-se menos sensível àqueles agentes. Por outro lado, caso o controle ambiental e dos fatores agravantes não seja valorizado, é possível que o paciente apresente mais sintomas, exacerbações e maior necessidade de medicação para controle da doença (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012).

A educação também faz parte do tratamento da asma. A educação inclui o monitoramento e um plano de ação por escrito, para que o paciente (ou cuidador) saiba identificar e como responder a piora dos sintomas. Essa educação está associada à redução da necessidade de cuidados de emergência, das faltas no trabalho e na escola e redução dos despertares noturnos (BOYD et al., 2009; PINNOCK, et al., 2017).

1.6 Asma – Epidemiologia

Asma é uma doença respiratória crônica comum, de elevada prevalência mundial, sendo considerada um problema de saúde pública mundial, acometendo pessoas de todas as idades (MASOLI et al., 2004). A prevalência de asma oscila de 1-18% da população em diferentes países (GINA, 2017), com estimativa de 334 milhões de pessoas portadoras da doença em todo o mundo (VOS et al., 2012). Estima-se que no Brasil existam aproximadamente 20 milhões de asmáticos, sendo considerada uma prevalência global de asma de 10% (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2012). Entre adolescentes brasileiros, com idade entre 12 e 17 anos, a prevalência de asma ativa é de 13,1%, sendo mais prevalente nas meninas (14,8%) do que nos meninos (11,2%) (KUSCHNIR et al., 2016). Nosso grupo investigou a prevalência de asma entre adultos em Ribeirão Preto e observou-se prevalência de asma entre as mulheres de 17,2% e entre os homens de 10,3% (BARBIERI et al., 2006).

Cardoso et al. (2017) apresentaram que no ano de 2013, houve 2.047 mortes devido a asma no Brasil. Foram documentadas 129.728 internações devido a asma, num custo estimado total superior a 21 milhões de dólares norte-americanos. De 2008 a 2013, houve redução de 36% no número de hospitalizações por asma, redução de 10% na mortalidade e manutenção de uma média de 3 dias de hospitalização devido a asma. Por outro lado, no mesmo período, houve aumento de aproximadamente 25% na taxa de mortalidade de asma entre indivíduos que estavam hospitalizados.

Em contrapartida, existem casos de remissão da asma. Holm et al. (2007) encontraram uma proporção média de remissão de asma em indivíduos adultos (definida por ausência de sintomas por 2 anos sem medicação) de 20,2 por 1.000 pessoas-ano. Não houve diferença na proporção de remissão entre mulheres e homens. Observou-se aumento da proporção de remissão entre os indivíduos que abandonaram o tabagismo. Pesce et al. (2015) observaram frequência de remissão de asma de 43,2 por 1.000 pessoas-ano. Os autores apresentaram que indivíduos com remissão tiveram início da asma com idade menor e tiveram duração da doença menor do que os indivíduos sem remissão. Entre crianças de 3 a 8 anos de idade, um total de 327 (50,9%) de 643 apresentaram remissão da asma, definida por presença de sintomas (sibilos) nos dois primeiros anos de vida e ausência de sintomas no último ano (LIN et al. 2016).

1.7 Fisiopatologia da asma

Desde o desenvolvimento da área de imunologia pulmonar, a asma passou a ser considerada como uma doença do tipo Th2 (LAMBRECHT; HAMMAD, 2015). Respostas imunes do tipo Th2 são induzidas por helmintos ou estão associadas com doenças atópicas, entre elas, a asma. Respostas Th2 são principalmente mediadas por eosinófilos, basófilos, mastócitos, células linfoides inatas e células B produtoras de IgE (FAHY, 2015). O reconhecimento da asma como um distúrbio do tipo Th2 baseou-se na inflamação das vias aéreas dos asmáticos (medida pelo escarro induzido, biópsia brônquica e lavado alveolar) que é frequentemente de característica eosinofílica, independente de o paciente ser alérgico ou não (BENTLEY et al., 1992; De MONCHY et al., 1985; HUMBERT et al., 1996).

As células inflamatórias presentes nas vias aéreas do asmático produzem uma gama muito grande de mediadores e citocinas, que resultam em edema de mucosa, secreção de muco, broncoconstrição e hiperreatividade brônquica (LAZARUS, 1998). A hiperreatividade brônquica pode ser definida como um estreitamento exagerado das vias aéreas em resposta a vários estímulos inespecíficos, tais como, exercício físico e agentes químicos e farmacológicos (JANSEN, 1997). Há dados que suportam a hipótese de que a hiperreatividade brônquica reflete a inflamação das vias aéreas e está associada à exposição atual, atividade da asma e gravidade da asma (COCKCROFT et al., 1992).

Característicos na asma, os eosinófilos também estão envolvidos no processo que a leva a hiperreatividade brônquica, por meio da liberação de mediadores broncoconstritores, quimiotáticos e vasoativos. Lesões dos tecidos das vias aéreas, principalmente lesões do epitélio também são causadas pelos eosinófilos. Tais lesões ocorrem devido à desgranulação dos eosinófilos, liberando uma série de agentes, entre eles, proteína catiônica eosinofílica, peroxidase eosinofílica e neurotoxinas derivadas dos eosinófilos (VENGE, 1994).

O processo inflamatório crônico das vias aéreas resulta em mudanças irreversíveis da parede brônquica, fenômeno conhecido como remodelamento brônquico (BOUSQUET et al., 2000; SUMI; HAMID, 2007). Tal fenômeno é resultado da alteração de células epiteliais, hiperplasia de glândula submucosa, fibrose subepitelial, aumento da musculatura lisa de via aérea e aumento de vascularização de via aérea (AIKAWA et al. 1992; KUWANO et al., 1993; LI; WILSON, 1997; ROCHE et al., 1989). Os eosinófilos também contribuem para o remodelamento das vias aéreas e para o espessamento da membrana subepitelial pela

liberação de fatores de crescimento transformante- β (TGF- β) (FATTOUH et al., 2011; SONG et al., 2009).

As células T desempenham papel importante no processo da asma. As células T CD4⁺, especialmente as do tipo Th2 produzem interleucina (IL)-4, IL-5 e IL-13, consideradas essenciais no desenvolvimento da inflamação eosinofílica e hiperreatividade (GAVETT et al., 1994; GRUNIG et al., 1998). Em modelo animal de asma, existem estudos que sugerem que a IL-13 contribui mais no processo inflamatório da asma do que a IL-4 (FINKELMAN et al., 1999; MCKENZIE et al., 1998), sendo que ambas, IL-4 e IL-13 podem induzir a hiperplasia de células caliciformes e hiperreatividade brônquica (PERKINS; WILLS-KARP; FINKELMAN, 2006). Além de todos os efeitos já mencionados, as células Th2 e as interleucinas estimulam o crescimento e a diferenciação de eosinófilos das vias aéreas, aumentam a produção de muco das vias aéreas, aumentam o número de mastócitos e basófilos e, por fim, induzem as células B a produzirem IgE (MOSMANN et al., 1986), sendo a IL-5 responsável pela sobrevivência das células B e pela maturação dos eosinófilos (OLIN; WECHSLER, 2014).

Após os anticorpos IgE serem sintetizados e liberados pelas células B, os mesmos circulam brevemente pela corrente sanguínea até ligarem-se aos receptores de alta afinidade (Fc ϵ RI), que estão presentes na superfície dos basófilos e dos mastócitos (BOUSQUET et al., 2000; BUSSE; LEMANSKE 2001). Por sua vez, a expressão de Fc ϵ RI é fortemente influenciada pelas concentrações séricas de IgE e também pela IL-4 (LAMBRECHT; HAMMAD, 20015). Também ocorre a ligação aos receptores de baixa afinidade (Fc ϵ RII e CD23), que são encontrados na superfície dos eosinófilos, macrófagos e linfócitos (BOUSQUET et al., 2000; BUSSE; LEMANSKE 2001).

Uma vez ativados, os basófilos e os mastócitos passam a liberar histamina e leucotrienos, que causam o estreitamento das vias aéreas, devido à contração da musculatura lisa que envolve as paredes dos brônquios de grande e médio calibre. Essa contração da musculatura da via aérea leva à diminuição do lúmen da via aérea, causando nível variável de dispneia, podendo até levar a morte por insuficiência respiratória. O estreitamento da via aérea também pode ocorrer pela liberação de acetilcolina a partir dos nervos parassimpáticos eferentes (BOUSHEY et al., 1980).

A hipersecreção de muco é outra característica da asma que não está limitada apenas às exacerbações de asmáticos graves, podendo ser observada em pacientes estáveis com asma

leve e moderada (ORDOÑEZ et al., 2000). Foi observado que a IL-13 está envolvida na metaplasia das células caliciformes, processo pelo qual as células epiteliais passam por transdiferenciação e começam a produzir muco espesso, contendo as mucinas MUC5AC e MUC5B, que obstruem o lúmen das vias aéreas (GRÜNIG et al., 1998; WILLS-KARP et al., 1998). Outro fator que leva a produção excessiva de muco é a hipertrofia de glândula submucosa (BOUSQUET et al., 2000).

1.8 Asma relacionada ao trabalho

Asma relacionada ao trabalho é caracterizada como a asma que pode ser causada ou exacerbada pela exposição ocupacional, sendo classificada com asma ocupacional ou asma agravada pelo trabalho, onde nas duas formas, a exposição ocupacional contribuirá com os sintomas da doença (FRIEDMAN-JIMÉNEZ et al., 2000). Asma ocupacional é especificamente causada pela exposição a agentes sensibilizantes ou irritantes que são encontrados no ambiente de trabalho. Por sua vez, a asma agrava pelo trabalho é pré-existente e é agravada pela exposição aos agentes ocupacionais (TARLO et al., 2008).

Aproximadamente entre 5 e 20% dos casos de asma na vida adulta são atribuíveis a fatores ocupacionais (BALMES et al., 2003; KOGEVINAS et al., 2007). Indivíduos com asma relacionada ao trabalho são 4,8 vezes mais prováveis a terem uma exacerbação da doença e ou visitarem algum centro de emergência aos menos uma vez em sua vida, em comparação com os indivíduos com asma, mas não relacionada ao trabalho (BRETON et al., 2006). Além disso, indivíduos com asma ocupacional tem pior qualidade de vida, provavelmente explicada pela exposição diária ao agente sensibilizante ou irritante, presente no ambiente de trabalho. Isso faz com que a asma relacionada ao trabalho seja um importante problema de saúde pública (LEMIERE et al., 2013).

Agentes causadores de asma ocupacional são classificados em dois grupos, os agentes de alto peso molecular, como o caso das proteínas de origem animal e vegetal e os agentes de baixo peso molecular, que de forma geral, são agentes químicos (TARLO, 2017; VANDENPLAS; SUOJALEHTO; CULLINAN, 2016). A asma ocupacional desencadeada pelos agentes de alto peso molecular é mais frequente. Tais agentes agem como antígenos completos, onde os indivíduos tornam-se sensibilizados, passando a apresentar respostas mediadas por IgE. A asma surge após período de latência, entre o início da exposição e o

desenvolvimento dos sintomas (CHAARI et al., 2011; MAPP et al., 2005; TARLO et al., 2000).

Agentes de baixo peso molecular também são capazes de induzir asma ocupacional, apresentando também período de latência entre o início da exposição e o desenvolvimento dos sintomas de asma (MAPP et al., 2005). O mecanismo fisiopatológico envolvido na indução de asma ocupacional por agentes de baixo peso molecular permanece amplamente desconhecido (MAESTRELLI et al., 2009). Sabe-se que na maioria dos casos o mecanismo é IgE independente, como o caso do epoxi amina (VANDENPLAS et al., 2017), contudo, alguns dos agentes de baixo peso também induzem asma com mecanismo IgE dependente, como é o caso do 3-Bromo Metil-2-cloro-4-(metil Sulfonil) - ácido benzoico (SUOJALEHTO et al., 2018).

Outra forma de asma ocupacional, menos comum, é a asma não imunológica, induzida por agentes irritantes ou tóxicos (TARLO, 2017). A asma não imunológica induzida por irritantes é caracterizada de forma geral por ausência de período de latência, onde os sintomas de asma podem iniciar dentro de 24 horas após a exposição, geralmente acidental a altas concentrações de irritantes ocupacionais, chamada de síndrome da disfunção reativa das vias aéreas (BROOKS; WEISS; BERNSTEIN, 1985). Entre os agentes que mais comumente induzem asma ocupacional não imunológica estão o dióxido de enxofre, amônia e o cloro (RABELL-SANTACANA et al., 2015).

Mais recentemente, Vandenplas et al. (2014) sugeriram uma distinção dos 3 fenótipos clínicos da asma induzida por irritante. Primeiro, asma definitivamente induzida por irritantes, com início dos sintomas de asma poucas horas após exposição única a nível muito alto de irritantes. Segundo, asma provavelmente induzida por irritantes, caracterizada por desenvolver-se após múltiplas exposições sintomáticas a elevados níveis de irritantes. Terceiro, asma possivelmente induzida por irritantes, asma que desenvolve-se com atraso após crônicas exposições a moderados níveis de irritantes.

Exemplos de trabalhadores com elevado risco de desenvolvimento de asma induzida pela exposição a irritantes químicos incluem, profissionais de área da saúde, principalmente fisioterapeuta respiratório, enfermeiros e terapeutas ocupacionais (ARIF; DELCOS, 2012); pessoal de serviço de limpeza (ARIF et al., 2003; ZOCK; VIZCAYA; LE MOUAL, 2010); trabalhadores envolvidos na fabricação de produtos químicos (SUOJALEHTO et al., 2018); pessoas que trabalham com revestimento contendo epóxi (VANDENPLAS et al., 2017).

O primeiro passo para o diagnóstico de asma relacionada ao trabalho é a confirmação clínica de que o paciente realmente tem asma. Após essa confirmação, deve ser avaliada a história clínica e ocupacional do trabalhador, o que permite avançar para a possibilidade de asma relacionada ao trabalho (PRALONG; CARTIER, 2017). A investigação deve começar o mais rápido possível quando existe suspeita do diagnóstico, de preferência, enquanto o paciente ainda esteja trabalhando (BEACH et al., 2007). O método direto, tido como método de referência, para diagnóstico de asma ocupacional é broncoprovocação específica, onde o indivíduo inala o agente suspeito de desencadear os sintomas. Além disso, prova de broncoprovocação inespecífica, óxido nítrico exalado, escarro induzido para contagem diferencial de células, pico de fluxo expiratório, realização de teste cutâneo e mensuração de IgE específica contribuem para o diagnóstico da asma relacionada ao trabalho (DOMINGUEZ-ORTEGA et al., 2016; MALO et al., 2015; PRALONG; CARTIER, 2017).

A completa e definitiva cessação da exposição ao agente sensibilizante é usualmente recomendada como a mais eficiente abordagem terapêutica para o tratamento da asma ocupacional (MUÑOZ et al., 20014). Quando comparada com a redução da exposição, a cessação completa aumenta a chance do desaparecimento dos sintomas, contudo, não há diferença na resposta do VEF1, comparando as duas abordagens (De GROENE et al., 2012). Por outro lado, trabalhadores com asma agravada pelo trabalho não precisam necessariamente abandonar seu emprego, desde que as condições ambientais sejam melhoradas e o tratamento médico adequado seja oferecido ao trabalhador (MUÑOZ et al., 20014).

2 JUSTIFICATIVA

Estudos prévios têm demonstrado que trabalhadores com sensibilização alérgica (atopia) a animais de laboratório (sensibilização ocupacional) estão associados com maior risco de reações alérgicas, quando comparados com indivíduos não sensibilizados aos animais (não atópico). Sendo que de forma geral, os estudos não definem se esse grupo não sensibilizado aos animais de laboratório seria sensibilizado ou não aos alérgenos comuns. Isso faz com que esse grupo possa ser composto por indivíduos com características distintas com relação a atopia.

Presumimos que tal comparação apresentada pelos estudos prévios (atopia x não atopia) não seja a mais apropriada, visto que é de amplo conhecimento que a atopia é um importante fator de risco para doenças alérgicas e respiratórias, logo, quando se faz essa comparação, é esperado que indivíduos atópicos sejam mais doentes do que indivíduos não atópicos. Especulamos que a melhor comparação seria realizada entre indivíduos com sensibilização alérgica ocupacional e indivíduos com sensibilização alérgica comum, porque assim, os dois grupos seriam compostos por indivíduos atópicos.

Acreditamos que entre trabalhadores com sensibilização ocupacional, a contínua exposição ao alérgeno ao qual o indivíduo é sensibilizado, esteja associada com aumento de risco para reações alérgicas, quando comparado com trabalhadores que apresentam apenas sensibilização aos alérgenos comuns, fazendo com que a sensibilização alérgica ocupacional seja um melhor marcador de risco para o desenvolvimento de reações alérgicas aos animais de laboratório.

Dessa forma, o presente estudo justifica-se pela necessidade de se compreender o impacto da sensibilização alérgica ocupacional entre os indivíduos expostos a animais de laboratório.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Adicionar conhecimentos sobre a associação entre a sensibilização alérgica ocupacional e a presença de sintomas e doenças alérgicas e respiratórias, entre trabalhadores expostos a animais de laboratório.

3.2 Objetivo específico

- Descrever a frequência da sobreposição dos sintomas cutâneos, de rinite e de asma entre os grupos não sensibilizado, sensibilização comum e ocupacional.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo e seleção dos voluntários

O presente estudo transversal investigou o efeito da sensibilização alérgica ocupacional a animais de laboratório entre trabalhadores e alunos expostos a animais de laboratório. Para isso, os voluntários foram submetidos a teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (TCHI) e de acordo com o resultado do teste, os voluntários foram alocados em um dos seguintes grupos: grupo não sensibilizado, grupo sensibilização comum e grupo sensibilização ocupacional.

O estudo foi conduzido em duas universidades brasileiras, Universidade de São Paulo campus Ribeirão Preto (USP-RP) e Universidade Estadual de Campinas campus Campinas (UNICAMP). O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP (protocolo número 9428/2009) (Anexo 1) e Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP (protocolo número 779/2009) (Anexo 2). Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi obtido de todos os voluntários.

Os voluntários do presente estudo foram avaliados no próprio ambiente de trabalho, no período de 16 de setembro de 2010 a 10 de fevereiro de 2012. Todos os testes foram realizados às quartas, quintas e sextas-feiras. Tal medida foi tomada na tentativa de se excluir possíveis efeitos relacionados ao fim de semana. Caso os voluntários fossem avaliados nas segundas e terças-feiras, poderíamos encontrar um viés, pois esses voluntários viriam de um período de dois dias sem exposição ao ambiente de trabalho e poderia assim ocorrer alteração (melhora) na função pulmonar, não refletindo as verdadeiras características da exposição ao ambiente de trabalho.

Para recrutamento de voluntários, primeiramente, foi necessário identificar aos laboratórios e ou biotérios, onde os mesmos desempenhavam suas funções. Dessa forma, foi realizado um mapeamento de todos os laboratórios e biotérios das duas instituições, onde os trabalhadores e alunos eram expostos a pelo menos um dos seguintes animais: rato, camundongo, cobaia, coelho ou hamster. Após esse mapeamento, os laboratórios e biotérios que seriam estudados foram selecionados por sorteio. Após o sorteio, foi realizado o contato com os trabalhadores e alunos, onde foram abordadas e esclarecidas todas as questões do estudo. No mínimo, 90% dos indivíduos de cada ambiente de trabalho aceitaram participar do estudo, sendo que a participação geral foi de 95% (FERRAZ et al., 2013).

4.2 Casuística

Para que fossem avaliados de uma maneira mais apropriada os efeitos da sensibilização ocupacional entre trabalhadores e alunos expostos a animais de trabalho, todos os voluntários do estudo foram submetidos ao TCHI e com base nos resultados foram formados três grupos para estudo:

- **Grupo não sensibilizado:** composto por indivíduos com TCHI negativo para todos os 16 alérgenos testados.
- **Grupo sensibilização comum:** compostos por indivíduos sensibilizados a pelo menos 1 dos alérgenos comuns testados e não sensibilizados a alérgenos ocupacionais.
- **Grupo sensibilização ocupacional:** composto por indivíduos com sensibilização a pelo menos 1 dos alérgenos ocupacionais testados. Indivíduos que apresentavam sensibilização a alérgeno ocupacional e também a alérgeno comum foram incluídos neste grupo.

Uma vez delimitados os grupos, a avaliação do impacto da sensibilização ocupacional pôde ser avaliada, principalmente quando o grupo sensibilização ocupacional foi comparado ao grupo sensibilização comum, pois neste caso, os dois grupos foram compostos por indivíduos atópicos, ou seja, os dois grupos possuíam risco para desenvolvimento de reações alérgicas e respiratórias.

Informações mais detalhadas a respeito da realização do TCHI e de quais alérgenos comuns e alérgenos ocupacionais foram testados estão descritos no item 4.5.1.

4.3 Critérios de inclusão

- Ser funcionário ou aluno de graduação ou pós-graduação;
- Ter 18 anos de idade ou mais, de ambos os sexos e de qualquer raça;
- Ter valor basal de volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) maior ou igual a 60% do previsto;
- Capacidade de compreender e executar os procedimentos previstos.

4.4 Critérios de exclusão

- Mulheres grávidas ou amamentando;
- Indivíduos com histórico significativo de doença renal, hepática, cardiovascular, metabólica, neurológica, hematológica, respiratória, gastrointestinal, cerebrovascular, ou outra doença ou distúrbio clinicamente significativo o qual, a critério do investigador, pudesse interferir no estudo, ou exigência de tratamento que pudesse vir a interferir no estudo. Exemplos específicos incluíram pacientes com diabetes mellitus dependentes de insulina, câncer dentro dos últimos 10 anos e hepatite. Outras condições que estivessem bem controladas e estáveis com medicação adequada (por exemplo, hipertensão, arritmia, distúrbios da tireóide) foram permitidas;
- Indivíduos que apresentam infecção do trato respiratório superior ou inferior (viral ou bacteriana) dentro das últimas seis semanas antes da execução dos testes;
- Indivíduos que recebiam agentes bloqueadores beta-adrenérgicos no período do estudo;
- Indivíduos que usaram qualquer droga em investigação dentro dos últimos 30 dias ou anticorpos para tratamento de asma ou rinite.

4.5 Procedimentos clínicos e avaliativos

4.5.1 Teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (TCHI)

O TCHI foi realizado seguindo as recomendações do *Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology* (1989). Todos os voluntários relataram não ter usado anti-histamínico nos 15 dias prévios a realização do TCHI. Para controle positivo foi usada histamina e para controle negativo foi usada solução salina. Foram testados 16 compostos de alérgenos e, desses, 11 foram chamados de alérgenos comuns e 5 foram denominados alérgenos ocupacionais. As reações cutâneas de cada alérgeno foram medidas 15 minutos após da realização do teste. O TCHI foi considerado positivo nos casos que apresentaram pápulas com diâmetro ≥ 3 mm acima do controle negativo, nesse caso, o indivíduo era considerado sensibilizado àquele alérgeno. A seguir, estão listados os 16 conjuntos de alérgenos testados.

Os alérgenos comuns foram constituídos e agrupados como descrito abaixo (Figura 1):

Figura 1: Composição dos alérgenos comuns.

Fonte: Produção do próprio autor.

Os alérgenos ocupacionais foram constituídos e agrupados como descrito abaixo (Figura 2):

Figura 2: Composição dos alérgenos ocupacionais.

Fonte: Produção do próprio autor.

4.5.2 Questionário

Todos os indivíduos responderam o questionário de sintomas respiratórios *The European Community Respiratory Health Survey* (ECRHS), que já foi traduzido e validado por Ribeiro et al. (2007). Também foram obtidas informações sobre características do trabalho, tais como, jornada diária de trabalho, tempo do trabalho com animais de laboratório, sobre frequência do contato com animais de laboratório, cargo, animais com que apresenta contato, tempo gasto com o manuseio dos animais, uso de equipamentos de proteção, diagnóstico prévio de doenças (pessoal e familiar), tabagismo, presença de animais de estimação, medicações em uso, sintomas relacionados ao trabalho (sibilo e dispneia) e, por fim, conhecimento e participação em eventos sobre o risco de reações alérgicas (entre elas, asma, rinite e alergia cutânea) causadas pela exposição a animais de laboratório (Anexo 3).

4.5.3 Espirometria

A função pulmonar foi avaliada pelo espirômetro Koko e seu programa (PDS Instrumentation, Inc., Louisville, Colorado, EUA). O espirômetro foi calibrado diariamente com inserção de dados ambientais, ou seja, temperatura em graus centígrados (°C), pressão atmosférica em milímetros de mercúrio (mmHg) e umidade relativa do ar em porcentagem (%). As espirometrias foram realizadas após explicação minuciosa sobre cada etapa do teste, sempre com os voluntários sentados, com o tórax ereto e clipe nasal. Foram realizadas ao menos 3 manobras tecnicamente satisfatórias para cada voluntário. Nos casos em que 3 manobras tecnicamente satisfatórias não fossem alcançadas após 8 tentativas, a espirometria era interrompida. Todas as espirometrias foram realizadas pelo mesmo profissional tecnicamente qualificado, seguindo as normas propostas em Diretrizes para Teste de Função Pulmonar (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2002). Valores de referência para os resultados foram aqueles descritos por Crapo et al., 1981.

4.5.4 Teste de broncoprovocação

O agente broncoconstritor utilizado nos testes de broncoprovocação foi o manitol, que é um pó seco de administração fácil e rápida. Para a realização dos testes de broncoprovocação com manitol, os instrumentos utilizados foram o espirômetro Koko e seu programa (PDS Instrumentation, Inc., Louisville, Colorado, EUA), o kit de manitol (fornecido pela Pharmaxis Ltd., New South Wales, Austrália) contendo uma cápsula vazia (0 mg), uma cápsula contendo 5 mg, uma cápsula contendo 10 mg, uma cápsula contendo 20 mg e 15 cápsulas contendo 40 mg de manitol (dose cumulativa de 635 mg de manitol), além do dispositivo inalatório OsmohalerH® (Plastiape, Osnago, Itália), que é um dispositivo de baixa resistência inspiratória.

O teste de broncoprovocação era realizado com o voluntário sentado e iniciado com a inalação da cápsula vazia. O uso da cápsula vazia tinha alguns objetivos, entre eles, o voluntário aprendia a manipular o dispositivo inalatório, onde a cápsula era inserida para sua perfuração e inalação. O som gerado pela vibração da cápsula no momento em que ela era aspirada no dispositivo inalatório indicava ao voluntário e examinador, que o fluxo inspiratório mínimo para inalação havia sido alcançado. Por fim, se houvesse algum erro do voluntário durante o processo de manipulação do dispositivo inalatório e/ou inalação, o examinador indicaria a forma correta. Um minuto após a inalação da cápsula vazia, nova espirometria era realizada para avaliação do VEF1, e o valor de VEF1 obtido nesse momento era considerado o VEF1 basal para o teste de broncoprovocação.

Após a avaliação do VEF1 basal do teste de broncoprovocação, o voluntário inalava a primeira dose de manitol (5 mg) e após 1 minuto dessa inalação, novamente era avaliado o VEF1. Caso houvesse queda de $\geq 15\%$ do VEF1 em relação ao valor basal, o teste de broncoprovocação era interrompido, e nesse caso, seria confirmada a presença de hiperreatividade brônquica (HRB). Caso não houvesse tal queda, o voluntário inalava a segunda dose de manitol (10 mg) e após um minuto realizava nova medida de VEF1. O teste de broncoprovocação foi realizado nessa sistemática, com doses de 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg, 160 mg, 160 mg e 160 mg, e um minuto após a inalação de cada uma das doses, o VEF1 era avaliado.

O teste de broncoprovocação chegava ao fim quando houvesse queda de $\geq 15\%$ do VEF1 em qualquer uma das etapas, sendo considerado assim, um teste positivo, ou após a inalação de 635 mg, dose máxima do teste, sem que houvesse queda de 15% do VEF1, nesse caso, teste negativo. Nos casos de HRB, a dose exata de manitol necessária para se obter 15%

de queda do VEF1 (PD15) foi calculada por interpolação linear dos últimos dois pontos da curva dose-resposta (BRANNAN et al. 2015).

4.6 Coleta de poeira para quantificação de endotoxina

4.6.1 Coleta de poeira

Para análise da concentração de endotoxina, foram coletadas amostras de poeira do chão de laboratórios e biotérios, por meio de um filtro (filtros de polycarbonato, 25 mm de diâmetro, com poros de 1 μ m), acoplado à extremidade do tubo do aspirador de pó (Arno Nitro, São Paulo, Brasil). Foram coletas amostras de poeira de uma área de 1 m² por um período de 2 minutos (RULLO et al. 2005; SCHRAM et al. 2005), dando-se preferência para coleta de amostra de poeira do canto de duas paredes e próximas ao rodapé de laboratório ou biotério. Em casos de onde o ambiente fosse dividido em duas áreas (por exemplo, local para manipulação dos animais e uma sala de estudos) foram coletas amostras de cada uma das áreas, para uma melhor representatividade do ambiente. Uma vez coletada a poeira, a amostra e o seu recipiente eram removidos do aspirador e depositados em saco plástico individual, para posterior pesagem e armazenamento em geladeira à temperatura de -2 a 8°C, até o momento da análise de endotoxina, que foi realizada em no máximo 30 dias após a coleta.

4.6.2 Extração de endotoxina da poeira

Para iniciar a quantificação da endotoxina, os filtros com as amostras de poeira foram alocados individualmente em tubos de polipropileno livre de pirogênio com capacidade de 50 ml (Falcon, Corning, SP, Brasil) contendo 35 ml de solução de água livre de pirogênio e 0,05% Tween 20 (v/v) para extração das endotoxinas. Posteriormente, as amostras foram submetidas a banho de ultrassom (Ultra Sonic Cleaner, Unique, São Paulo, Brasil) por período de 20 minutos à temperatura ambiente e na frequência de 40 KHz. Em seguida, essas soluções foram centrifugadas por 10 minutos à temperatura ambiente em 991×g, retirado 1 ml que foi novamente centrifugado à 1.000×g, por 10 minutos à temperatura ambiente, e retirado 5 μ l do sobrenadante para análise. Cada alíquota da suspensão foi diluída em 1:50, 1:500, 1:5000 para a dosagem.

4.6.3 Determinação dos níveis de endotoxina

Para análise quantitativa da concentração de endotoxina da poeira dos ambientes de trabalho foi utilizado o ensaio cromogênico denominado “*Limulus* amebocyte lysate”, ou também conhecido como lisado de amebócitos de *Limulus* (LAL) (LONZA, Atlanta, Estados Unidos da América). Este ensaio é baseado na ativação pela endotoxina de uma cascata enzimática presente no lisado de amebócitos de uma espécie de caranguejo, conhecida como caranguejo ferradura (*Limulus polyphemus*). Essa ativação efetua a clivagem de um substrato colorimétrico (DUNGAN, 2011; NOSS et al., 2008).

Todos os procedimentos relacionados à quantificação de endotoxina nas amostras de poeira foram realizadas em câmara de fluxo laminar. As amostras de poeira diluídas foram alocadas na placa de 96 poços, onde os 5 primeiros poços da placa foram destinados para o desenvolvimento da curva padrão, contendo, 1 UE/mL, 0,5 UE/mL, 0,25 UE/mL, 0,1 UE/mL e 0 UE/mL, em cada poço. Em todos os poços (tanto amostras para quantificação como as amostras da curva padrão), foram adicionados 50 µl do LAL; posteriormente, a placa foi incubada durante 10 minutos, a 37°C. Após esse período de incubação, foram adicionados em todos os poços, 100 µl do substrato cromogênico, a seguir, passaram por uma homogeneização e novamente incubados por 6 minutos a 37 °C. As reações foram interrompidas após adição de 100 µl de um reagente de interrupção.

Coloração amarela era obtida das amostras que continham endotoxina. A leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro a 405 nm. A concentração de endotoxina na poeira dos laboratórios e biotério foi apresentada em unidade de endotoxina (UE) por miligrama (mg) de poeira, por metro quadrado (m²).

4.7 Desfechos estudados

4.7.1 Asma confirmada

Asma foi confirmada por dois componentes principais da doença: presença de HRB (definida pelo teste de broncoprovocação com manitol positivo) e relato de pelo menos um dos seguintes sintomas nos últimos 12 meses: sibilos, sensação de aperto no peito durante a noite, falta de ar durante o dia ou a noite.

4.7.2 Hiperreatividade brônquica (HRB)

Descrita como negativa ou positiva, se queda $\geq 15\%$ do VEF1 durante o teste de broncoprovocação com manitol.

4.7.3 Sibilos

Definido pela resposta positiva à seguinte questão: “Você teve chiados ou assobios no peito, alguma vez, nos últimos 12 meses?”

4.7.4 Rinite

O indivíduo foi considerado como tendo rinite se ele/ela respondesse positivamente alguma das duas questões seguintes: 1 - “Você tem rinite (alergia no nariz)?” 2 - “Teve alguma vez secreção nasal ou o nariz entupido sem estar resfriado?”

4.7.5 Sintomas cutâneos

Definida pela resposta positiva a seguinte questão: “Teve vermelhidão e irritação da pele que aparecem e desaparecem nos últimos 12 meses?”

4.7.6 Dispneia noturna

Definida pela resposta positiva a seguinte questão: “Acordou durante a noite, por falta de ar, nos últimos 12 meses?”

4.7.8 Eczema ou alergia cutânea

Definida pela resposta positiva à questão: “Já teve alguma vez eczema ou outro tipo de alergia de pele?”

4.8 Variáveis de controle utilizadas na análise

4.8.1 Anos de exposição:

Definida pela duração da exposição aos animais de laboratório. Resultados foram categorizados da seguinte maneira: menos de 1 ano de exposição; entre 1,1 a 3,0 anos de exposição; entre 3,1 a 5,0 anos de exposição; 5,1 anos ou mais de exposição.

4.8.2 Jornada diária de trabalho

Definida pela seguinte questão: “Qual a sua jornada diária de trabalho?” Resultados foram categorizados em duas categorias: ≥ 8 horas e < 8 horas.

4.8.3 Animal de estimação

Definida pela seguinte questão: “Você tem ou teve no último ano animais de estimação em casa?”

4.8.4 Tabagismo

Definida pela seguinte questão: “Você fuma ou fumou por mais de 1 ano?”

4.8.5 Concentração de endotoxina

Resultados categorizados da seguinte maneira: Alta concentração de endotoxina para valores acima de 20,4 UE/mg (mediana) e baixa concentração de endotoxina para concentrações iguais ou inferiores a 20,4 EU/mg.

4.8.6 Sexo

Classificado em masculino ou feminino.

4.8.7 Idade

Valores numéricos analisados de forma contínua, conforme o relato do voluntário.

4.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio da empresa de consultoria PROESTAT. Na análise descritiva inicial, os resultados foram apresentados em forma de prevalência ou frequência. Análise univariada foi utilizada na comparação de dados demográficos, variáveis de controle e desfechos entre os grupos, não sensibilizado, sensibilização comum e sensibilização ocupacional. Para comparação da idade entre os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn. Para comparação do PD15 entre os grupos foi utilizada ANOVA e para comparação do número de TCHI positivos entre os grupos sensibilização comum e sensibilização ocupacional foi utilizado teste t de *Student*. As demais variáveis (categóricas) foram comparadas por meio do teste de qui-quadrado.

Para estimar a razão de prevalência (RP), foi utilizado o modelo de regressão de Poisson com variância robusta (ZOU, 2004). Essa análise foi realizada para investigar se a sensibilização ocupacional estaria associada com aumento de prevalência dos desfechos, sendo assim, um fator de risco. Dessa forma, todos os modelos multivariados apresentam as seguintes comparações: “grupo sensibilização ocupacional versus grupo não sensibilizado” e “grupo sensibilização ocupacional versus grupo sensibilização comum”, sendo que a última comparação era de nosso maior interesse.

Foram desenvolvidos modelos estatísticos para os seguintes desfechos: asma confirmada, HRB, sibilo, rinite, dispneia noturna, sintomas cutâneos e eczema/alergia. As variáveis de controle para todos os modelos foram: idade, sexo, jornada diária de trabalho, presença de animal de estimação e tabagismo. O modelo estatístico para análise de sibilo também foi controlado para concentração de endotoxina. Para todas as análises adotou-se um nível de significância de 5%. As análises multivariadas foram realizadas usando o software SAS 9.0.

5 RESULTADOS

No total, foram abordados 455 indivíduos expostos a animais de laboratórios e, desses, 2 não realizaram TCHI e foram excluídos do estudo. Dessa forma, foram analisados dados de 453 voluntários. O grupo de indivíduos não sensibilizados foi composto por 237 voluntários, o grupo sensibilização comum composto por 142 voluntários e o grupo sensibilização ocupacional foi composto por 74 voluntários (Figura 3).

Figura 3: Distribuição dos voluntários.

Fonte: Produção do próprio autor.

Na Tabela 1 são apresentadas as principais características dos voluntários/grupos. Indivíduos do grupo sensibilização comum apresentaram idade média menor do que indivíduos do grupo sensibilização ocupacional ($p < 0,01$) e indivíduos do grupo não sensibilizado ($p < 0,05$). Não houve diferença na distribuição dos sexos entre os grupos, assim como não houve diferença na prevalência de tabagistas, indivíduos com animais de estimação no último ano e na jornada diária de trabalho. A variável anos de exposição foi dividida em 4 categorias e observou-se uma grande oscilação na frequência de cada categoria entre os grupos. Por fim, não houve diferença na concentração de endotoxina (alta e baixa) entre os grupos. Ressalta-se que todas as variáveis apresentadas na Tabela 1 foram incluídas como variáveis confundidoras na análise multivariada.

Na Tabela 2 são apresentadas as características espirométricas dos indivíduos e a dose média de manitol responsável por queda de 15% do VEF1 basal dos voluntários. Nota-se que não houve diferença de prevalência de indivíduos com valores abaixo do predito para VEF1, capacidade vital forçada (CVF), volume expiratório forçado no primeiro segundo/capacidade vital forçada (VEF1/CVF), pico de fluxo expiratório (PFE), fluxo expiratório forçado entre 25 e 75% da CVF (FEF 25-75) entre os grupos. Além disso, não houve diferença na média do PD15 entre os grupos.

Na Tabela 3 são demonstradas as prevalências dos desfechos estudados. Observou-se diferença de prevalência de todos os desfechos analisados (asma confirmada, HRB, sibilo, rinite, dispneia noturna, sintomas cutâneos e eczema ou alergia cutânea) na comparação entre os grupos.

Além disso, ao se investigar a sobreposição dos desfechos no mesmo voluntário: asma confirmada, rinite e sintomas cutâneos entre os grupos, observou-se que a frequência de sobreposição foi maior no grupo sensibilização ocupacional, 16,2% versus 4,9% no grupo sensibilização comum e 1,6% do grupo não sensibilizado ($p < 0,01$) (Figura 4).

Rato e camundongo foram os animais mais amplamente utilizados entre os voluntários do presente estudo, seguidos por exposição a coelho, cobaia e hamster (Tabela 4). Sensibilizações alérgicas a rato e camundongo foram as mais prevalentes entre os indivíduos do grupo sensibilização ocupacional, seguidas por sensibilização a cobaia, coelho e hamster (Tabela 5).

Tabela 1 - Características dos voluntários

	Grupo não sensibilizado (n=237)	Grupo sensibilização comum (n=142)	Grupo sensibilização ocupacional (n=74)	p
Idade	33,0 ± 10,6	29,6 ± 8,7	33,0 ± 10,1	<0,01*
Sexo				
Feminino	128 (54,0%)	77 (54,2%)	39 (52,7%)	0,97
Masculino	109 (46,0%)	65 (45,8%)	35 (47,3%)	
Tabagismo	40 (16,8%)	23 (16,1%)	17 (22,9%)	0,41
Animal de estimação	148 (62,4%)	89 (62,6%)	47 (63,5%)	0,98
Jornada diária de trabalho				
< 8 horas	45 (19,0%)	34 (24,1%)	8 (10,8%)	0,06
≥ 8 horas	192 (81,0%)	107 (75,9%)	66 (89,2%)	
Anos de exposição				
≤ 1,0	29 (12,3%)	31 (21,8%)	8 (10,8%)	0,02**
de 1,1 a 3,0	54 (22,9%)	32 (22,5%)	7 (9,5%)	0,03**
de 3,1 a 5,0	49 (20,8%)	16 (11,3%)	12 (16,2%)	0,05**
≥ 5,1	104 (44,0%)	63 (44,4%)	47 (63,5%)	<0,01**
Concentração de endotoxina				
Baixa	83 (37,9%)	54 (43,5%)	32 (47,1%)	0,32
Alta	136 (62,1%)	70 (56,5%)	36 (52,9%)	

*Teste de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn

**Teste qui-quadrado

Concentração de endotoxina: Baixa concentração: ≤ 20,4 UE/mg de poeira, Alta concentração: > 20,4 UE/mg de poeira.

Dado perdido de 1 voluntário do grupo sensibilização comum, referente a variável jornada diária de trabalho.

Dado perdido de 1 voluntário do grupo não sensibilizado, referente a variável anos de exposição.

Dados da concentração de endotoxina foram avaliados de 411 voluntários.

Tabela 2 - Características espirométricas e reatividade brônquica (PD15)

	Grupo não sensibilizado (n=237)	Grupo sensibilização comum (n=142)	Grupo sensibilização ocupacional (n=74)	p
Espirometria				
VEF1 (< 80% do previsto)	14 (5,9%)	8 (5,6%)	4 (5,4%)	0,98*
CVF (< 80% do previsto)	26 (10,9%)	10 (7,0%)	2 (2,8%)	0,06*
VEF1/CVF (< 90% do previsto)	20 (8,4%)	10 (7,0%)	10 (13,5%)	0,14*
PFE (< 80% do previsto)	47 (19,8%)	27 (19,0%)	14 (18,9%)	0,90*
FEF 25-75% (< 60% do previsto)	11 (27,8%)	7 (25,3%)	7 (36,4%)	0,26*
Reatividade brônquica				
PD15 (mg)	296,3±214,5	209,9±153,9	288,3±168,3	0,29**

*teste qui-quadrado.

**ANOVA.

VEF1: volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF: capacidade vital forçada; VEF1/CVF: Volume expiratório forçado no primeiro segundo/capacidade vital forçada; PFE: pico de fluxo expiratório; FEF 25-75%: fluxo expiratório forçado entre 25 e 75% da CVF.

Tabela 3 - Prevalência dos desfechos estudados

	Grupo não sensibilizado (n=237)	Grupo sensibilização comum (n=142)	Grupo sensibilização ocupacional (n=74)	p
Asma confirmada	8 (3,3%)	14 (9,8%)	20 (27,0%)	<0,01*
HRB	10 (4,2%)	21 (14,7%)	26 (34,2%)	<0,01*
Sibilo	34 (14,3%)	34 (23,9%)	34 (45,9%)	<0,01*
Rinite	133 (56,1%)	107 (75,3%)	67 (90,5%)	<0,01*
Dispneia noturna	21 (8,8%)	15 (10,5%)	18 (24,3%)	<0,01*
Sintomas cutâneos	68 (28,6%)	49 (34,5%)	38 (51,3%)	<0,01*
Eczema ou alergia cutânea	87 (36,7%)	72 (50,7%)	47 (63,5%)	<0,01*

*Teste qui-quadrado.

HRB: hiperreatividade brônquica.

Figura 4: Frequência de sobreposição de asma confirmada, rinite e sintomas cutâneos entre indivíduos do grupo não sensibilizado, grupo sensibilização comum e grupo sensibilização ocupacional.

Fonte: Produção do próprio autor.

Tabela 4 - Prevalência de exposição aos animais de laboratório

Animal	Indivíduos expostos a animais de laboratório (n= 453)
Rato	336 (74,1%)
Camundongo	327 (72,1%)
Cobaia	49 (10,8%)
Coelho	51 (11,2%)
Hamster	18 (3,9%)

Os dados estão apresentados em número de casos (porcentagem do grupo).

Tabela 5 - Prevalência de sensibilização aos animais de laboratório

Animal	Indivíduos sensibilizados a animais de laboratório (n= 74)
Rato	48 (64,8%)
Camundongo	43 (58,1%)
Cobaia	12 (16,2%)
Coelho	9 (12,1%)
Hamster	8 (10,8%)

Os dados estão apresentados em número de casos (porcentagem do grupo)

A prevalência de sensibilização aos alérgenos comuns no grupo sensibilização comum e sensibilização ocupacional é apresentada na Tabela 6. O grupo sensibilização comum apresentou maior prevalência de sensibilização ao *Dermatophagoides pteronyssinus*, comparado ao grupo sensibilização ocupacional ($p = 0,035$). Os grupos não apresentaram diferença na prevalência de sensibilização para os demais alérgenos comuns.

Na Tabela 7 é apresentado o número de testes cutâneos positivos (alérgenos comuns e ocupacionais), dos indivíduos do grupo sensibilização comum e grupo sensibilização ocupacional. Não houve diferença na prevalência de sensibilização aos alérgenos comuns entre os grupos. Entretanto, ao somar-se o número de testes cutâneos positivos dos alérgenos comuns e ocupacionais, o grupo sensibilização ocupacional apresentou maior número de testes cutâneos positivos, quando comparado ao grupo sensibilização comum ($p < 0,001$).

Tabela 6 - Prevalência de sensibilização aos alérgenos comuns

Alérgenos	Grupo sensibilização comum (n=142)	Grupo sensibilização ocupacional (n=74)	p
<i>Derma. pteronyssinus</i>	106 (74,6%)	45 (60,8%)	0,035*
<i>Derma. farinae</i>	103 (72,5%)	50 (67,5%)	0,446
<i>Blomia tropicalis</i>	93 (65,4%)	42 (56,7%)	0,208
<i>Felis domesticus</i>	3 (2,1%)	3 (4,0%)	0,410
<i>Canis familiaris</i>	22 (15,4%)	18 (24,3%)	0,113
<i>Blattella germanica</i>	17 (11,9%)	8 (10,8%)	0,800
<i>Periplaneta americana</i>	10 (7,0%)	8 (10,8%)	0,342
<i>Alternaria alternata</i>	2 (1,4%)	1 (1,3%)	0,973
<i>Cladosporium herbarum</i>	1 (0,7%)	0 (0,0%)	0,469
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1,000
Gramíneas	62 (43,6%)	30 (40,5%)	0,660

*Teste qui-quadrado.

Derma.: Dermatophagoides.

Tabela 7 - Número de testes cutâneos positivos entre os indivíduos do grupo sensibilização comum e grupo sensibilização ocupacional

Alérgenos	Grupo sensibilização comum (n=142)	Grupo sensibilização ocupacional (n=74)	p
Alérgenos ocupacionais	0,00 ± 0,00	1,62 ± 1,03	<0,001*
Alérgenos comuns	2,96 ± 1,29	2,81 ± 2,09	0,505
Alérgenos comuns e ocupacionais	2,96 ± 1,29	4,43 ± 2,35	<0,001*

*Teste t de *Student*. Os dados estão apresentados como média ± desvio padrão.

A Tabela 8 apresenta a análise multivariada para os fatores de risco para asma confirmada. Indivíduos com sensibilização ocupacional apresentaram aumento de risco para asma quando comparado com indivíduos não sensibilizados (razão de prevalência (RP): 7,68; intervalo de confiança de 95% (IC 95%): 3,52-16,75) e indivíduos com sensibilização comum (RP: 2,65; IC 95%: 1,45-4,85). Além disso, observa-se que indivíduos expostos entre 3,1 a 5,0 anos aos animais, apresentaram maior risco para asma, quando comparado com indivíduos com menos de 1 ano de exposição (RP: 3,29; IC 95%: 1,06-10,14).

Tabela 8 - Avaliação dos fatores de risco para asma confirmada

Variáveis		Categorias (n)		Modelo bruto			Modelo ajustado		
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=73) vs não sensibilizado (n=234)	7,98	3,67	17,35	<0,01	7,68	3,52	16,75	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=73) vs comum (n=140)	2,72	1,46	5,06	<0,01	2,65	1,45	4,85	<0,01
Tabagismo	Sim (n=77) vs não (n=370)	1,30	0,65	2,61	0,45	1,48	0,74	2,96	0,27
Sexo	Feminino (n=240) vs masculino (n=207)	1,27	0,70	2,28	0,43	1,28	0,72	2,27	0,40
Anos de exposição	de 1,1 a 3,0 (n=91) vs ≤ 1,0 (n=68)	1,10	0,32	3,76	0,87	1,46	0,42	5,10	0,55
Anos de exposição	de 3,1 a 5,0 (n=77) vs ≤ 1,0 (n=68)	2,61	0,88	7,71	0,08	3,29	1,06	10,14	0,04
Anos de exposição	≥ 5,1 (n=210) vs ≤ 1,0 (n=68)	1,60	0,57	4,50	0,38	2,16	0,65	7,19	0,21
Idade	Contínuo	0,97	0,94	1,00	0,09	0,96	0,92	1,01	0,12
Jornada diária de trabalho	≥ 8h (n=359) vs < 8h (n=87)	0,89	0,44	1,79	0,75	0,76	0,35	1,65	0,48
Animal de estimação	Sim (n=278) vs não (n=169)	0,73	0,41	1,31	0,29	0,74	0,42	1,32	0,31

RP: razão de prevalência; IC: intervalo de confiança; vs: versus.
 Dados de asma confirmada não foram obtidos de 6 voluntários.

Os indivíduos do grupo sensibilização ocupacional estiveram associados com aumento de risco para HRB, quando comparados aos indivíduos do grupo não sensibilizado (RP: 8,25; IC 95%: 4,10-16,62) e aos indivíduos do grupo sensibilização comum (RP: 2,47; IC 95%: 1,50-4,09) (Tabela 9). Na avaliação dos fatores de risco para sibilo (Tabela 10), observou-se que a sensibilização ocupacional esteve associada com aumento de risco para relato de sibilo, quando comparado ao grupo não sensibilizado (RP: 3,69; IC: 2,44-5,57) e ao grupo sensibilização comum (RP: 1,75; IC 95%: 1,21-2,53). Também foi verificado que indivíduos expostos a altas concentrações de endotoxina ($> 20,4$ EU/mg de poeira) estiveram associados com aumento de risco para sibilo, levando em consideração indivíduos expostos a baixas concentrações de endotoxina (RP: 1,59; IC 95%: 1,09-2,22).

A Tabela 11 apresenta a avaliação dos fatores de risco para dispneia noturna. O grupo sensibilização ocupacional esteve associado com aumento da prevalência de dispneia noturna, quando comparado ao grupo não sensibilizado (RP: 2,60; IC 95%: 1,43-4,71) e ao grupo sensibilização comum (RP: 2,40; IC 95%: 1,31-4,40). O sexo feminino também atuou como fator de risco para dispneia noturna (RP: 1,96; IC 95%: 1,10-3,48). Possuir animal de estimação no último ano também esteve associado com aumento de risco para dispneia noturna (RP: 2,09; IC 95%: 1,16-3,77).

O grupo sensibilização ocupacional esteve associado com aumento de risco de rinite, quando comparado ao grupo não sensibilizado (RP: 1,58; IC 95%: 1,38-1,81) e ao grupo sensibilização comum (RP: 1,25; IC 95%: 1,11-1,40). Sexo feminino também esteve associado com aumento de risco para rinite, em comparação ao sexo masculino (RP: 1,23; IC 95%: 1,09-1,40), enquanto o aumento da idade demonstrou-se um fator inversamente associado com aumento de risco para rinite (RP: 0,99; IC 95%: 0,98-0,99) (Tabela 12). Sintomas cutâneos também foram mais prevalentes no grupo sensibilização ocupacional, quando comparado ao grupo não sensibilizado (RP: 1,64; IC 95%: 1,22-2,20) e ao grupo sensibilização comum (RP: 1,36; IC 95%: 1,01-1,85) (Tabela 13).

Por fim, com relação à prevalência de eczema ou alergia cutânea, foi observado aumento no grupo sensibilização ocupacional, quando comparado ao grupo não sensibilizado (RP: 1,56; IC 95%: 1,24-1,96), por outro lado, quando comparado ao grupo sensibilização comum, não houve diferença na prevalência de eczema ou alergia cutânea. Sexo feminino também esteve associado com aumento da prevalência de eczema ou alergia cutânea (RP: 1,39; IC 95%: 1,13-1,72) (Tabela 14).

Tabela 9 - Avaliação dos fatores de risco para hiperreatividade brônquica

Variáveis	Categorias (n)	Modelo bruto				Modelo ajustado			
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=73) vs não sensibilizado (n=234)	8,30	4,20	16,39	<0,01	8,25	4,10	16,62	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=73) vs comum (n=140)	2,36	1,43	3,89	<0,01	2,47	1,50	4,09	<0,01
Tabagismo	Sim (n=77) vs não (n=370)	1,02	0,54	1,92	0,96	1,15	0,62	2,15	0,66
Sexo	Feminino (n=240) vs masculino (n=207)	1,19	0,72	1,94	0,50	1,19	0,74	1,91	0,47
Anos de exposição	de 1,1 a 3,0 (n=91) vs $\leq 1,0$ (n=68)	0,65	0,27	1,61	0,36	0,90	0,38	2,11	0,80
Anos de exposição	de 3,1 a 5,0 (n=77) vs $\leq 1,0$ (n=68)	1,35	0,63	2,93	0,44	1,79	0,85	3,77	0,13
Anos de exposição	$\geq 5,1$ (n=210) vs $\leq 1,0$ (n=68)	0,92	0,45	1,87	0,82	1,31	0,60	2,89	0,50
Idade	Contínuo	0,97	0,94	0,99	0,02	0,96	0,93	1,00	0,08
Jornada diária de trabalho	$\geq 8h$ (n=359) vs $< 8h$ (n=87)	0,75	0,43	1,30	0,30	0,70	0,38	1,29	0,25
Animal de estimação	Sim (n=278) vs não (n=169)	0,72	0,45	1,17	0,19	0,72	0,45	1,16	0,17

RP: razão de prevalência; IC: Intervalo de confiança; vs: versus.

Dados de hiperreatividade brônquica não foram obtidos de 6 voluntários.

Tabela 10 - Avaliação dos fatores de risco para sibilo

Variáveis		Categorias (n)		Modelo bruto			Modelo ajustado		
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=71) vs não sensibilizado (n=225)	3,50	2,33	5,27	<0,01	3,69	2,44	5,57	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=71) vs comum (n=127)	1,73	1,19	2,52	<0,01	1,75	1,21	2,53	<0,01
Tabagismo	Sim (n=74) vs não (n=349)	0,89	0,55	1,45	0,65	0,91	0,59	1,42	0,69
Sexo	Feminino (n=228) vs masculino (n=195)	1,30	0,91	1,86	0,15	1,21	0,86	1,70	0,28
Anos de exposição	de 1,1 a 3,0 (n=81) vs ≤ 1,0 (n=61)	1,19	0,64	2,20	0,58	1,33	0,73	2,43	0,35
Anos de exposição	de 3,1 a 5,0 (n=73) vs ≤ 1,0 (n=61)	1,32	0,71	2,43	0,38	1,50	0,82	2,73	0,18
Anos de exposição	≥ 5,1 (n=207) vs ≤ 1,0 (n=61)	1,02	0,59	1,75	0,95	1,12	0,61	2,08	0,71
Idade	Contínuo	0,98	0,97	1,00	0,09	0,99	0,97	1,02	0,45
Jornada diária de trabalho	≥ 8h (n=344) vs < 8h (n=78)	0,85	0,56	1,31	0,47	0,94	0,59	1,49	0,79
Animal de estimação	Sim (n=266) vs não (n=157)	1,30	0,89	1,90	0,17	1,29	0,89	1,88	0,18
Concentração de endotoxina	Alta (n=288) vs baixo (n=115)	1,47	1,00	2,15	0,04	1,56	1,09	2,22	0,01

RP: razão de prevalência; IC: intervalo de confiança; Baixa concentração de endotoxina: $\leq 20,4$ UE/mg de poeira; Alta concentração de endotoxina: $> 20,4$ UE/mg de poeira; vs: versus.

Dados de sibilos não foram obtidos de 30 voluntários.

Tabela 11 - Avaliação dos fatores de risco para dispneia noturna

Variáveis	Categorias (n)	Modelo bruto				Modelos ajustado			
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=73) vs não sensibilizado (n=234)	2,74	1,54	4,85	<0,01	2,60	1,43	4,71	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=73) vs comum (n=141)	2,30	1,23	4,30	<0,01	2,40	1,31	4,40	<0,01
Tabagismo	Sim (n=79) vs não (n=369)	1,06	0,56	2,01	0,87	1,12	0,55	2,27	0,76
Sexo	Feminino (n=242) vs masculino (n=206)	2,21	1,26	3,89	<0,01	1,96	1,10	3,48	0,02
Anos de exposição	de 1,1 to 3,0 (n=92) vs ≤ 1,0 (n=68)	1,14	0,47	2,80	0,77	1,27	0,49	3,26	0,62
Anos de exposição	de 3,1 to 5,0 (n=76) vs ≤ 1,0 (n=68)	0,88	0,33	2,38	0,80	1,03	0,37	2,85	0,96
Anos de exposição	≥ 5,1 (n=211) vs ≤ 1,0 (n=68)	1,32	0,60	2,86	0,49	1,95	0,76	5,03	0,17
Idade	Contínuo	0,98	0,96	1,01	0,26	0,97	0,93	1,00	0,12
Jornada diária de trabalho	≥ 8h (n=360) vs < 8h (n=87)	0,85	0,47	1,54	0,59	0,86	0,42	1,75	0,68
Animais de estimação	Sim (n=282) vs não (n=166)	2,06	1,11	3,79	0,02	2,09	1,16	3,77	0,01

RP: razão de prevalência; IC: intervalo de confiança; vs: versus.

Dados de dispneia noturna não foram obtidos de 5 voluntários.

Tabela 12 - Avaliação dos fatores de risco para rinite

Variáveis	Categorias (n)	Modelo bruto				Modelo ajustado			
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=73) vs não sensibilizado (n=234)	1,61	1,41	1,83	<0,01	1,58	1,38	1,81	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=73) vs comum (n=141)	1,21	1,08	1,36	<0,01	1,25	1,11	1,40	<0,01
Tabagismo	Sim (n=80) vs não (n=368)	1,07	0,92	1,25	0,38	1,17	1,01	1,35	0,04
Sexo	Feminino (n=242) vs masculino (n=206)	1,27	1,11	1,44	<0,01	1,23	1,09	1,40	<0,01
Anos de exposição	de 1,1 a 3,0 (n=92) vs $\leq 1,0$ (n=68)	0,93	0,77	1,13	0,48	0,99	0,82	1,20	0,93
Anos de exposição	de 3,1 a 5,0 (n=75) vs $\leq 1,0$ (n=68)	0,88	0,71	1,09	0,23	0,94	0,77	1,15	0,55
Anos de exposição	$\geq 5,1$ (n=212) vs $\leq 1,0$ (n=68)	0,90	0,76	1,07	0,24	1,04	0,86	1,26	0,69
Idade	Contínuo	0,99	0,98	0,99	<0,01	0,99	0,98	0,99	<0,01
Jornada diária de trabalho	$\geq 8h$ (n=362) vs $< 8h$ (n=85)	0,95	0,81	1,10	0,47	1,03	0,88	1,21	0,70
Animais de estimação	Sim (n=282) vs não (n=166)	1,12	0,98	1,29	0,09	1,12	0,98	1,28	0,09

RP: razão de prevalência; IC: intervalo de confiança; vs: versus.

Dados de rinite não foram obtidos de 5 voluntários.

Tabela 13 - Avaliação dos fatores de risco para sintomas cutâneos

Variáveis		Categorias (n)		Modelo bruto			Modelo ajustado		
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=72) vs não sensibilizado (n=229)	1,77	1,32	2,38	<0,01	1,64	1,22	2,20	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=72) vs comum (n=131)	1,43	1,04	1,96	0,03	1,36	1,01	1,85	0,04
Tabagismo	Sim (n=75) vs não (n=357)	1,15	0,84	1,56	0,39	1,14	0,83	1,56	0,42
Sexo	Feminino (n=232) vs masculino (n=200)	1,31	1,01	1,71	0,04	1,30	0,99	1,69	0,05
Anos de exposição	de 1,1 a 3,0 (n=88) vs ≤ 1,0 (n=64)	0,89	0,55	1,46	0,66	0,94	0,58	1,54	0,81
Anos de exposição	de 3.1 a 5,0 (n=75) vs ≤ 1,0 (n=64)	1,09	0,68	1,76	0,72	1,17	0,72	1,90	0,53
Anos de exposição	≥ 5,1 (n=204) vs ≤ 1,0 (n=64)	1,28	0,86	1,91	0,22	1,44	0,92	2,26	0,11
Idade	Contínuo	1,00	0,99	1,01	0,81	0,99	0,97	1,00	0,17
Jornada diária de trabalho	≥ 8h (n=348) vs < 8h (n=83)	1,08	0,77	1,50	0,66	1,01	0,70	1,46	0,97
Animal de estimação	Sim (n=269) vs não (n=163)	1,19	0,90	1,55	0,22	1,18	0,90	1,55	0,23

RP: razão de prevalência; IC: intervalo de confiança. vs: versus.
 Dados de sintomas cutâneos não foram obtidos de 21 voluntários.

Tabela 14 - Avaliação dos fatores de risco para eczema ou alergia cutânea

Variáveis		Categorias (n)		Modelo bruto			Modelo ajustado		
		RP	IC 95%		p	RP	IC 95%		p
Grupo	Ocupacional (n=72) vs não sensibilizado (n=218)	1,63	1,29	2,06	<0,01	1,56	1,24	1,96	<0,01
Grupo	Ocupacional (n=72) vs comum (n=130)	1,19	0,94	1,49	0,15	1,15	0,92	1,44	0,21
Tabagismo	Sim (n=71) vs não (n=349)	1,01	0,78	1,30	0,96	1,01	0,78	1,31	0,92
Sexo	Feminino (n=231) vs masculino (n=189)	1,39	1,13	1,71	<0,01	1,39	1,13	1,72	<0,01
Anos de exposição	de 1,1 a 3,0 (n=86) vs ≤ 1,0 (n=61)	0,87	0,60	1,24	0,44	0,89	0,62	1,27	0,51
Anos de exposição	de 3.1 a 5,0 (n=70) vs ≤ 1,0 (n=61)	0,95	0,66	1,36	0,77	0,95	0,66	1,38	0,80
Anos de exposição	≥ 5,1 (n=202) vs ≤ 1,0 (n=61)	1,11	0,83	1,48	0,50	1,10	0,79	1,54	0,57
Idade	Contínuo	1,00	0,99	1,01	0,70	1,00	0,98	1,01	0,55
Jornada diária de trabalho	≥ 8h (n=340) vs < 8h (n=79)	1,13	0,86	1,48	0,37	1,11	0,84	1,48	0,47
Animal de estimação	Sim (n=263) vs não (n=157)	0,99	0,81	1,21	0,92	0,98	0,80	1,20	0,86

RP: razão de prevalência; IC: intervalo de confiança. vs: versus.

Dados de eczema ou alergia cutânea não foram obtidos de 33 voluntários.

6 DISCUSSÃO

Discussão

No presente estudo, investigou-se a associação entre a sensibilização alérgica ocupacional e sintomas cutâneos, eczema ou alergia cutânea, sibilos, dispneia noturna, rinite, HRB e asma confirmada. Foram incluídos trabalhadores e estudantes expostos a animais de laboratório que, de acordo com o resultado do TCHI, foram alocados em um de três grupos: grupo sensibilização ocupacional, grupo sensibilização comum e grupo não sensibilizado. Somaram-se 74 indivíduos com sensibilização ocupacional, 142 com sensibilização comum e 237 não sensibilizados. Indivíduos do grupo sensibilização ocupacional apresentaram aumento da prevalência de todos os desfechos estudados, exceto eczema ou alergia cutânea quando comparados aos indivíduos do grupo sensibilização comum e aumento de prevalência de todos os desfechos sem exceção quando comparados ao grupo não sensibilizado. Também observou-se que indivíduos do grupo sensibilização ocupacional apresentaram maior frequência de sobreposição de sintomas cutâneos, rinite e asma confirmada.

Além disso, nossos resultados demonstraram que a exposição ocupacional a concentrações de endotoxina superiores a 20,4 UE/mg de poeira está associada com aumento da prevalência de relato de sibilos nos últimos 12 meses. Com relação ao tempo de exposição, verificou-se que indivíduos com exposição entre 3,1 a 5,0 anos possuem maior risco para asma quando comparado com indivíduos com menos de 1,0 ano de exposição. Exposição a animais de estimação esteve associado com aumento de prevalência de dispneia noturna. Sexo feminino foi fator de risco para dispneia noturna, rinite e eczema ou alergia cutânea. Por fim, tabagismo esteve associado com aumento de prevalência de sintomas de rinite.

Entre os indivíduos com sensibilização ocupacional, os animais mais frequentemente associados a esta sensibilização foram o rato (48 indivíduos) e o camundongo (43 indivíduos). A maior prevalência de sensibilização a esses animais deve-se principalmente ao fato de terem sido os animais mais comumente empregados nos laboratórios e biotérios. Além disso, sensibilização a ambos esses animais pode ocorrer mesmo em trabalhadores expostos a apenas uma espécie. Essa dupla sensibilização pode refletir IgE com reatividade cruzada, pois Rat n1 e Mus m1, os alérgenos mais importantes de rato e camundongo, respectivamente,

pertencem à mesma família de proteínas lipocalinas e compartilham 66% de homologia em suas sequências de aminoácidos (JEAL et al., 2009).

Os efeitos da sensibilização ocupacional entre trabalhadores expostos a animais de laboratório já foram estudados em outros trabalhos. Durante o 12º mês de exposição a animais de laboratórios, trabalhadores com sensibilização ocupacional relataram mais sintomas oftalmológicos e nasais comparados a trabalhadores que não possuíam sensibilização ocupacional. Entre indivíduos atópicos, definido por teste cutâneo positivo a qualquer alérgeno, houve aumento da HRB durante o estudo. A dose de metacolina para causar queda de 20% ou mais do VEF1 passou de 0,54 mg (0,19 - 1,91 mg) para 0,38 mg (0,12 - 1,00 mg), após 24 meses de exposição ocupacional. Além disso, os autores observaram queda da função pulmonar (VEF1 e CV), independentemente de os voluntários possuírem ou não sensibilização ocupacional (PALMBERG et al., 2015).

Entre trabalhadores com menos de 4 anos de exposição e sensibilizados aos animais aos quais eram expostos, observou-se declínio da CVF (-148 ml/ano), VEF1 (-83 ml/ano) e MMEF (-7 ml/s/ano), quando comparado aos trabalhadores expostos, mas que não tinham sensibilização ocupacional. Ademais, análises empregando modelos de regressão múltipla mostraram que tanto a sensibilização como a exposição aos animais parecem contribuir independentemente para o declínio da função pulmonar entre trabalhadores expostos a animais de laboratório (PORTENGAN et al., 2003).

Renstrom et al. (1995) estudaram indivíduos com alergia a animais de laboratório (n= 9), definida por sensibilização e/ou sintomas relacionados a exposição aos animais de laboratório, e indivíduos que não tinham alergia a animais de laboratório (n= 29), durante seguimento médio de 18 meses. Não foram observadas diferenças na função pulmonar entre os grupos, tanto na avaliação inicial como na avaliação final. Também não houve diferença de HRB na avaliação inicial entre os grupos, no entanto, durante a segunda avaliação, indivíduos com alergia a animais de laboratório (definida por sensibilização ocupacional e/ou sintomas) apresentaram aumento da reatividade brônquica, quando comparado aos indivíduos que não tinham alergia a animais de laboratório. O mesmo resultado foi observado na comparação entre indivíduos que apresentavam TCHI positivo ou IgE específica aos animais de laboratório (n= 7), quando comparado com indivíduos não sensibilizados aos animais (n= 31).

Esses estudos descritos acima reforçam a importância da sensibilização ocupacional, que também demonstramos com metodologia diferente. Nos outros estudos, devido suas

peculiaridades metodológicas, não sabemos as características dos indivíduos que formaram os grupos controles, não sabemos se esses indivíduos controle eram sensibilizados a outros alérgenos não ocupacionais ou puramente não sensibilizados a nenhum alérgeno. Essa foi uma de nossas preocupações e, para não atrapalhar a interpretação dos resultados, empregamos 2 grupos para comparação (sensibilização comum e nenhuma sensibilização).

No presente estudo, observou-se que a prevalência de asma (confirmada por HRB associada a sintomas) entre os 453 voluntários dos três grupos foi de 9,2%, entretanto, ao se classificar os voluntários de acordo com o tipo de alérgenos aos quais os mesmos eram sensibilizados, observou-se que 27,0% dos trabalhadores com sensibilização ocupacional possuíam asma, o que mostra o impacto da sensibilização ocupacional, visto que a prevalência de asma entre trabalhadores com sensibilização comum foi de 9,8% e no grupo não sensibilizado foi de 3,3%.

Uma hipótese para a elevada prevalência de asma entre os trabalhadores com sensibilização ocupacional pode se basear no fato de que exposição prolongada aos animais leva à asma ocupacional em aproximadamente 1/3 dos trabalhadores sensibilizados (AOYAMA et al., 1992; ELLIOTT et al., 2005), onde alguns dos sintomas apresentados são tosse, sibilo e dispneia (BUSH, 2001; WOOD, 2001), podendo os sintomas persistir por vários dias e frequentemente causar despertares noturnos (CORRADI et al., 2013).

Entre trabalhadores expostos a animais de laboratório, pode ser observada a sobreposição de sintomas/doenças. A sobreposição é resultado do desenvolvimento dos sintomas alérgicos e da seleção dos trabalhadores que suportam trabalhar mesmo doentes. De fato, a sobreposição dos sintomas é marcante entre trabalhadores expostos a animais, onde dificilmente será observado trabalhador com apenas um sintoma. Aparentemente a sobreposição de sintomas mais comum se dá entre os trabalhadores com asma, que citam sintomas nasais/oculares ou cutâneos (HUNSKAAR; FOSSE, 1990). Nossos dados confirmam a alta frequência de sobreposição de sintomas entre os voluntários asmáticos, como por exemplo, o que ocorre no grupo sensibilização ocupacional, onde todos os voluntários asmáticos relataram rinite.

Evidências epidemiológicas consistentes demonstram a frequência elevada da sobreposição entre asma e rinite no mesmo paciente. Asma está presente entre 20-50% dos pacientes com rinite, enquanto rinite está presente em até 80% dos asmáticos (BOUSQUET; VIGNOLA; DEMOLY, 2003). No presente estudo, entre indivíduos do grupo sensibilização

ocupacional, todos os indivíduos com asma confirmada relatam rinite, e entre os indivíduos com rinite, 29,8% tiveram asma confirmada.

Uma questão importante entre trabalhadores expostos a animais de laboratório é a falta de conhecimento sobre o risco relacionado à exposição ocupacional aos animais. Em pesquisa realizada no Japão, entre pesquisadores do *Kochi Medical School*, 24,2% dos voluntários relatam receber material educativo sobre alergia (MUZEMBO et al., 2014). No presente estudo, 25,0% relataram receber alguma orientação sobre os riscos das alergias aos animais de laboratório e 25,1% leram algum material referente a esse risco (FERRAZ et al., 2013). Além disso, pode ser que a pouca disponibilidade de informações sobre alergia a animais de laboratório esteja associada ao uso inadequado dos equipamentos de proteção individual.

A inalação é a forma mais comum de exposição aos alérgenos animais, seguida pela exposição cutânea e ocular entre trabalhadores expostos a animais de laboratório (ACTON; MCCAULEY, 2007). Interessantemente, indivíduos do grupo sensibilização ocupacional usam com maior frequência máscaras durante o processo de manuseio dos animais quando comparado aos indivíduos do grupo sensibilização comum (32,4% versus 16,2%, $p=0,006$ - dados não descritos nos Resultados). Uma justificativa para esse fato é a possibilidade do trabalhador já ter identificado sintomas perante a exposição aos animais, e usa a máscara com o objetivo de limitar essa exposição. Entretanto, o mesmo não é observado para o uso de luvas e óculos, onde os equipamentos de proteção são usados com a mesma frequência entre os grupos. Talvez isso ocorra devido à falta de conhecimento de que a exposição também ocorre por meio da pele e dos olhos e não apenas pela inalação.

A recomendação para trabalhadores com asma ocupacional é a cessação da exposição ao agente sensibilizante, a qual está geralmente associada ao abandono do trabalho (MUÑOZ et al., 2014; KENYON et al., 2012). A redução da exposição parece ser menos benéfica do que a cessação completa (VANDENPLAS et al., 2012). Para trabalhadores que permanecem expostos aos animais de laboratório, existem várias estratégias que podem ser usadas para reduzir a exposição aos alérgenos dos animais. Controles de engenharia são as abordagens preferidas porque além de sua alta eficácia, elas não requerem implementação do trabalhador para uso na rotina de trabalho (CORRADI; FERDENZI; MUTTI, 2012). Entre alguns controles de engenharia estão cabines biológicas de segurança, sistema de exaustão local, equipamentos robóticos, gaiolas ventiladas separadamente e ambientes com pressão negativa (STAVE; DARCEY, 2012).

Ambientes com gaiolas com filtros apresentam redução de 95% do nível de exposição à endotoxina, e redução de 90% do nível de exposição ao alérgeno de camundongo, quando comparado com ambientes com gaiolas abertas e não ventiladas (PLATTS-MILLS et al., 2005). A prática mais eficiente para redução da exposição ao alérgeno de camundongo é o uso de gaiolas individualmente ventiladas com pressão negativa (CORRADI; FERDENZI; MUTTI, 2012). O uso das gaiolas individualmente ventiladas reduz a exposição aos alérgenos e reduz a incidência de sensibilização ao alérgeno animal, mas não a elimina, mesmo entre indivíduos que trabalham apenas com gaiolas individualmente ventiladas (FEARY; CULLINAN, 2016).

O uso de equipamentos de proteção respiratória leva à redução significativa dos sintomas respiratórios e mudanças em parâmetros funcionais durante exposição de curto prazo, no entanto, falha ao promover proteção completa aos trabalhadores (VANDENPLAS et al., 2012). Stave e Darcey (2012) em um estudo envolvendo 198 instituições demonstraram uma ampla variedade de equipamentos de proteção individual (EPI) de uso obrigatório. Os EPIs de uso obrigatório mais frequentemente observados foram: luva (88,3%), uniforme (85,7%), propé (52,6%) e máscara cirúrgica (42,9%). No entanto, devido ao seu ajuste frouxo e a baixa capacidade de filtragem, a máscara cirúrgica não fornece proteção respiratória adequada contra pequenas partículas transportadas pelo ar (SIEGEL et al. 2007), não devendo ser considerada um EPI (STAVE; DARCEY, 2012). Sendo assim, o EPI mais usado nos serviços de saúde para proteção respiratória é a máscara N95 (SIEGEL et al. 2007).

Embora reduzir a exposição do trabalhador aos alérgenos ocupacionais seja uma questão muito importante, identificar uma margem segura de exposição é difícil. Simoneti et al. (2016) estudaram concentrações de alérgenos de rato (Rat n1) e de camundongo (Mus m1) na poeira de laboratórios e biotérios, para identificar concentrações que estivessem associadas com sensibilização alérgica e sintomas de rinite e asma. Os autores não encontraram nenhuma concentração (valor de corte) de Rat n1 ou Mus m1 que estivesse associada com aumento de risco de sensibilização ou sintomas. Lieutier-Colas et al. (2002) demonstraram que a maioria dos trabalhadores que relataram sintomas relacionados a exposição a rato não é sensibilizada a rato. Além disso, esses autores não encontraram associação entre sensibilização ou sintomas e concentração de alérgeno de rato ou de endotoxina. Por fim, Peng et al. (2011) mostraram que trabalhadores expostos a concentrações intermediárias do alérgeno de camundongo apresentavam maior risco de sensibilização a camundongo, quando comparado a trabalhadores expostos a concentrações baixas ou altas. Os autores também observaram que

baixa variação na concentração do alérgeno eleva o risco de sensibilização. Dessa forma, aparentemente não existem níveis de concentração de alérgenos que não estejam associados a riscos de sensibilização ocupacional e de desenvolvimento de sintomas relacionados à exposição a animais de laboratório e, além disso, também não há uma resposta linear entre o aumento da concentração de alérgeno e aumento de risco para sensibilização.

Krop et al. (2009) estudaram se medidas imunológicas e parâmetros de inflamação das vias aéreas estavam associados com desenvolvimento de sensibilização ocupacional entre indivíduos atópicos. Os autores apresentaram que parâmetros de inflamação da via aérea não contribuem significativamente. No entanto, por meio de um algoritmo multivariado, os autores descrevem que pelo aconselhamento pré-ingresso na ocupação para candidatos atópicos, com IgE superior a 100 UI/ml, a ocorrência de sensibilização a animais de laboratório pode ser reduzida em até 50%, com menos de 10% de falso positivo.

Os dados do presente estudo, associados aos dados de Krop et al. (2009) seriam úteis e se complementariam numa avaliação pré-ingresso, porque após a mensuração de IgE, o exame indicaria um possível risco aumentado para sensibilização ocupacional, e assim o médico poderia esclarecer o risco da sensibilização ocupacional e com base nos dados do presente estudo, apontaria que o trabalhador poderia vir a fazer parte de um grupo de indivíduos (com sensibilização ocupacional) que estão associados com elevada prevalência de uma série de desfechos.

O número de alérgenos aos quais os indivíduos são sensibilizados também é uma questão importante no presente estudo. Quando se leva em questão a prevalência geral de testes cutâneos positivos entre os grupos, os indivíduos do grupo sensibilização ocupacional apresentaram mais testes positivos do que os indivíduos do grupo sensibilização comum. Contudo, este fato está diretamente relacionado com os critérios de inclusão e exclusão de cada grupo. Indivíduos do grupo sensibilização ocupacional poderiam ter até 16 testes cutâneos positivos (11 alérgenos comuns e 5 alérgenos ocupacionais), enquanto indivíduos do grupo sensibilização comum poderiam ter no máximo 11 testes positivos (apenas os 11 alérgenos comuns). Quando comparamos a prevalência de sensibilização restringindo-se aos 11 alérgenos comuns testados em ambos os grupos, observa-se que não houve diferença no número de testes cutâneos positivos entre os grupos.

Craig et al. (2008) observaram que 5% dos asmáticos não foram sensibilizados a nenhum alérgeno, 14% dos asmáticos foram sensibilizados a 1 ou 2 alérgenos e 81% dos

asmáticos foram sensibilizados a 3 ou mais alérgenos. Toppila-Salmi et al. (2015) relataram que o número de testes cutâneos positivos está associado a aumento do risco de asma, mas não houve associação entre a gravidade da asma e o número de testes positivos. Polissensibilização (sensibilização a mais de um alérgeno) também pode ser associada com diminuição da qualidade de vida (CIPRANDI et al., 2007), sendo que sua prevalência aumenta com a idade (DEMOLY et al., 2016) e pode ocorrer devido à similaridade da estrutura dos alérgenos (SCHNUCH; BRASCH; UTER, 2008), como é o caso da similaridade do alérgenos de rato e camundongo que já foi mencionado anteriormente (JEAL et al., 2009).

Também descrevemos nos Resultados que duração de exposição entre 3,1 e 5 anos associa-se a maior risco de asma confirmada, quando comparada à duração menor de 1 ano. Interessantemente, trabalhadores expostos por mais de 5 anos não apresentaram aumento de risco para asma. Isso nos leva a crer que podemos estar perante a um evento denominado “efeito do trabalhador saudável”, que se refere à seleção natural dos trabalhadores expostos a ambientes que geram riscos. Dessa forma, trabalhadores que apresentam sintomas relacionados a exposição ocupacional são levados a se afastar do emprego e continuam no trabalho as pessoas com sintomas mais leves ou, principalmente, as assintomáticas (LE MOUAL et al., 2008). No estudo transversal, o efeito do trabalhador saudável pode gerar um viés importante, pois o trabalhador sintomático pode abandonar a ocupação sem relatar os sintomas, dessa forma, os resultados de prevalência obtidos podem ser subestimados.

Outra hipótese para que os trabalhadores com mais de 5 anos de exposição não relatem sintomas é o desenvolvimento de tolerância aos alérgenos aos quais são expostos. Jeal et al. (2006) observaram aumento na prevalência de trabalhadores com altos níveis de IgG e IgG4, associado com alta intensidade de exposição a rato, observado entre os profissionais responsáveis pelo manuseio dos animais e pela limpeza das gaiolas. Esses trabalhadores fizeram uma coprodução de anticorpos IgE e IgG4, enquanto indivíduos não expostos a altas intensidades produziram apenas IgE específica. Indivíduos expostos a rato em intensidades elevadas e que produzem anticorpo IgG4 tem redução de riscos de sintomas pulmonares associados com o trabalho, sugerindo que IgG4 específica a rato desempenhe um papel de proteção. Corroborando os resultados de Jeal et al. (2006), Jones et al. (2014a) mostraram que entre trabalhadores que não relaram sintomas pulmonares e com alta exposição a rato de acordo com a categoria do emprego, observou-se significativamente menos IgE ligada a alérgenos.

Essa tolerância natural desenvolvida por alguns trabalhadores expostos a altas concentrações de alérgenos se assemelha com a tolerância desenvolvida após imunoterapia (JONES et al., 2014a), como por exemplo, em pacientes alérgicos a pólen de grama, que se tornam tolerantes após imunoterapia com altas doses de extrato do alérgeno de grama, onde tais indivíduos apresentam elevados níveis de anticorpo IgG4 específicos, que bloqueiam atividade de anticorpos IgE (NOURI-ARIA et al., 2004). A imunoterapia é indicada para pacientes com rinite alérgica de moderada e grave e para pacientes com asma de leve a moderada, em casos que o tratamento é pouco efetivo, mal tolerado pelo paciente e indesejado para longos períodos (MIGUERES et al., 2014).

A endotoxina é outro agente encontrado nos ambientes expostos a animais de laboratório (FREITAS et al., 2016; DUNGAN, 2011), sendo um constituinte da parede celular de bactérias gram-negativo (DORESWAMY; PEDEN, 2010). Exposição a endotoxina está associada a febre, asma (DUNGAN, 2012; LIAO et al., 2010), sibilos (FREITAS et al., 2016), pneumonia tóxica e efeitos sistêmicos agudos como a indisposição (DUNGAN, 2012). Nosso grupo avaliou previamente essa amostra quanto à endotoxina no ambiente de trabalho e observou-se que concentrações superiores a 20,4 EU/mg de endotoxina na poeira estiveram associadas com aumento da prevalência de sibilo nos últimos 12 meses. Além disso, observou-se que a concentração média de endotoxina na poeira dos laboratórios expostos a animais foi de 34,2 EU/mg, superior à concentração média dos ambientes de trabalho não expostos a animais que foi de 10,2 EU/mg (FREITAS et al., 2016). Dessa forma, incluiu-se a variável endotoxina na presente análise para investigar se independentemente da concentração de endotoxina (alta ou baixa), a sensibilização alérgica ocupacional ofereceria risco para sibilo. De fato, mesmo o modelo sendo ajustado para endotoxina, a sensibilização ocupacional confirmou-se como fator de risco para sibilo, mais importante que a sensibilização comum e que a própria concentração de endotoxina. A presente análise confirmou os achados relatados na publicação prévia onde a concentração de endotoxina se associou ao relato de sibilos.

Por fim, exposição a animais de estimação no último ano esteve associada com aumento de prevalência de dispneia noturna. Dos 453 voluntários do presente estudo, 284 (62,6%) relatam ter ao menos um animal de estimação no último ano, desses 245 relataram ter cachorro, 67 relataram ter pássaro, 65 relatam ter gato (animais mais prevalentes). Sabe-se que a exposição a animais de estimação também está associada à sensibilização alérgica (OLIVIERI et al., 2012; PARK et al., 2013) e a sensibilização comum é fortemente associada com a sensibilização ocupacional (PORTENGAN et al., 2003). No presente estudo, 77,0%

dos indivíduos com sensibilização ocupacional apresentaram sensibilização comum. Não obstante, sensibilização alérgica a cachorro e gato estão associadas a alergia a animais de laboratório (HOLLANDER; DOEKES; HEEDERIK, 1996). Dessa forma, exposição a animais de estimação torna-se uma questão importante nessa população, visto sua alta prevalência e o seu impacto.

Uma característica do presente estudo foi a realização do teste de broncoprovocação com manitol para diagnóstico da HRB. Os estímulos utilizados nos testes de broncoprovocação podem ser classificados em diretos ou indiretos. Teste de broncoprovocação diretos refere-se ao uso de agonistas, tais como a histamina e a metacolina, que agem diretamente na musculatura lisa da via aérea, causando constrição. O agente direto mais usado é a metacolina que age nos receptores muscarínicos (M3), enquanto a histamina age nos receptores H1 (COCKCROFT, 2010).

Entre os estímulos indiretos estão os agentes osmóticos (manitol e salina hipertônica), hiperventilação com ar frio e seco e monofosfato de adenosina, que causam estreitamento das vias aéreas devido a liberação de uma variedade de mediadores inflamatórios, que agem nos receptores muscarínicos. Dessa forma, postula-se que o estímulo indireto identifique a responsividade da musculatura lisa da via aérea e a inflamação da via aérea, que são as principais características da asma (BRANNAN et al., 2012). Acredita-se que a resposta da via aérea ao estímulo indireto correlaciona-se melhor com as características clínicas da asma (PAUWELS; JOSS; STRAETEN, 1988).

A identificação da asma por meio do teste de broncoprovocação associado a relato de sintomas nos últimos meses é um ponto forte do presente estudo, visto que essa definição é tida como padrão-ouro para identificação da asma (BORGES; FERRAZ; VIANNA, 2011). Alguns estudos identificam trabalhadores asmáticos por meio de questionários de relato de sintomas (MOGHTADERI et al., 2014; MUZEMBO et al., 2014). No entanto, aparentemente o relato nem sempre é preciso, visto que dos 42 voluntários diagnosticados com asma, 13 (30,9%) relataram não ter asma, contudo possuíam HRB e relatavam sintomas. Além disso, dentre os 49 casos que relataram ter asma, 21 (42,8%) não possuíam HRB e sintomas.

Outras questões metodológicas importantes do presente estudo foram realização de todos os procedimentos no mesmo dia, quarta, quinta ou sexta-feira para que o teste pudesse indicar possíveis efeitos causados pela exposição ocupacional que se inicia na segunda-feira. Isto é, caso os voluntários fossem avaliados em segundas e terças-feiras, os resultados

poderiam ter um viés, devido à ausência de exposição aos animais de laboratório no fim de semana. Outra questão metodológica foi a inclusão de ao menos 90% dos trabalhadores de cada ambiente de trabalho selecionado para se evitar viés de recrutamento.

Como limitações do presente estudo podemos considerar o *design* do estudo, onde adotou-se um modelo transversal ao invés um modelo prospectivo. Dessa forma, não sabemos se a sensibilização ocupacional foi uma precursora dos desfechos estudados ou se os trabalhadores já eram mais alérgicos, já apresentavam os desfechos estudados e só depois passaram a ser sensibilizados aos animais de laboratório. Uma outra limitação metodológica seria a ausência de medidas de IgE que poderiam fornecer dados interessantes sobre a sensibilização alérgica ocupacional e o desenvolvimento de sintomas.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo apresentou os riscos da sensibilização alérgica ocupacional entre trabalhadores expostos a animais de laboratório. Concluímos que a sensibilização ocupacional está associada a maior prevalência de todos os desfechos analisados, exceto eczema ou alergia cutânea, quando comparada à sensibilização comum. Além disso, a sobreposição de desfechos foi mais frequente no grupo sensibilização ocupacional, o que mostra que a sensibilização ocupacional é um melhor marcador de risco para reações alérgicas associadas à exposição a animais de laboratório.

Embora a sensibilização ocupacional eleve o risco para sintomas e doenças, não sabemos se a mesma deva ser critério para aconselhar o profissional a abandonar o emprego. Acreditamos que seria ideal que os trabalhadores realizassem TCHI com os alérgenos ocupacionais periodicamente, para se caso houvesse a sensibilização ocupacional, o trabalhador seria abordado numa fase inicial das reações alérgicas aos animais de laboratório e poderia receber informações claras sobre os riscos aos quais está exposto, bem como realizar acompanhamento médico com maior frequência para investigar o desenvolvimento de sintomas e doenças relacionadas à exposição e a sensibilização aos animais de laboratório.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ACTON, D.; MCCAULEY, L. Laboratory animal allergy: an occupational hazard. **AAOHN journal**, Atlanta, v. 55, n. 6, p. 241-244, jun. 2007.
- AIKAWA, T. et al. Marked goblet cell hyperplasia with mucus accumulation in the airways of patients who died of severe acute asthma attack. **Chest**, Chicago, v. 101, n. 4, p. 916-921, abr. 1992.
- American Thoracic Society. Standardization of Spirometry, 1994 Update. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 152, n. 3, p. 1107-1036, set. 1995.
- AOYAMA K, et al. Allergy to laboratory animals: an epidemiological study. **British Journal of Industrial Medicine**, London, v. 49, n. 1, p. 41-47, jan. 1992.
- ARIF, A. A. et al. Occupational exposures associated with work-related asthma and work-related wheezing among U.S. workers. **American journal of industrial medicine**, New York, v. 44, n. 4, p. 368-376, out. 2003.
- ARIF, A. A.; DELCOS G. L. Association between cleaning-related chemicals and work-related asthma and asthma symptoms among healthcare professionals. **Occupational and environment medicine**, London, v. 69, n. 1, p. 35-40, jan. 2012.
- BALMES, J. et al. American Thoracic Society Statement: Occupational contribution to the burden of airway disease. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v.167, n. 5, p. 787-797, mar. 2003.
- BARBIERI, M. A. et al. Health in early adulthood: the contribution of the 1978/79 Ribeirão Preto birth cohort. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 39, n. 8, p.1041-1055, ago. 2006.
- BEACH, J. et al. A systematic review of the diagnosis of occupational asthma. **Chest**, Chicago, v. 131, n. 2, p. 569-578, fev. 2007.
- BENTLEY, A. M. et al. Activated T-lymphocytes and eosinophils in the bronchial mucosa in isocyanate-induced asthma. **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 89, n. 4, p. 821-829, abr. 1992.
- BLAND, S. M. et al. Occupational allergy to laboratory animals: an epidemiologic study. **Journal of occupational medicine**, Baltimore, v. 28, n. 11, p. 1151-1157, nov. 1986.
- BORGES, M. DE C.; FERRAZ, E.; VIANNA, E. O. Bronchial provocation tests in clinical practice. **São Paulo medical journal**, São Paulo, v. 129, n. 4, p. 243-249, 2011.
- BOTHAM, P. A.; DAVIES, G. E.; TEASDALE, E. L. Allergy to laboratory animals: a prospective study of its incidence and of the influence of atopy on its development. **British Journal of Industrial Medicine**, London, v. 44, n. 9, p. 627-632, set. 1987.

- BOUSHEY, H. A. et al. Bronchial hyperreactivity. **The American review of respiratory disease**, New York, v. 121, n. 2, p. 389-413, fev. 1980.
- BOUSQUET, J. et al. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 161, n. 5, p. 1720-1745, mai. 2000.
- BOUSQUET, J.; VIGNOLA, A. M.; DEMOLY, P. Links between rhinitis and asthma. **Allergy**, Copenhagen, v. 58, p. 8, p. 691-706, ago. 2003.
- BOYD, M. et al. Interventions for educating children who are at risk of asthma-related emergency department attendance. **The Cochrane database of systematic reviews**, Oxford, abr. 2009.
- BRANNAN, J. D. et al. The safety and efficacy of inhaled dry powder mannitol as a bronchial provocation test for airway hyperresponsiveness: a phase 3 comparison study with hypertonic (4.5 %) saline. **Respiratory Research**, London, v. 6, p. 144, dez. 2005.
- BRETON, C. et al. Characteristics of work related asthma: results from a population based survey. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 63, n. 6. p. 411-415, jun. 2006.
- BROOKS S. M.; WEISS M. A.; BERNSTEINS, I. L. Reactive airways dysfunction syndrome (RADS). Persistent asthma syndrome after high level irritant exposures. **Chest**, Chicago, v. 88, n. 3, p. 376-384, set. 1985.
- BRYANT, D. H. et al. Allergy to laboratory animals among animal handlers. **The medical journal of Australia**, Sydney, v. 163, n. 8, p. 415-418, out. 1995.
- BUSH, R. K. Mechanism and epidemiology of laboratory animal allergy. **ILAR Journal**, Washington, v. 42, n. 1, p. 4-11, 2001.
- BUSH, R. K.; STAVE, G. M. Laboratory animal allergy: an update. **Institute of Laboratory Animal Research**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 28-51, jan. 2003.
- BUSH, R. K.; WOOD, R. A.; EGGLESTON, P. A. Laboratory animal allergy. **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 102, n. 1, p. 99-112, jul. 1998.
- BUSSE, W. W.; LEMANSKE, R. F. Asthma. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 344, n. 5, p. 350-362, fev. 2001.
- CARDOSO, T. A. et al. The impact of asthma in Brazil: a longitudinal analysis of data from a Brazilian national database system. **Jornal brasileiro de pneumologia**, Brasília, v. 43, n. 3, p.163-168, mai./jun. 2017.
- CHAARI, N. et al. Work related asthma in the textile industry. **Recent patents on inflammation and allergy drug discovery**, Saif Zone, v. 5, n. 1, p. 37-44, jan. 2011.
- CHINI, L. et al. Novel treatments of asthma and allergic diseases. **Paediatric Respiratory Reviews**, London, v. 13, 1, p. 526-542, dez. 2013.
- CIPRANDI, G. et al. Quality of life in allergic rhinitis: relationship with clinical, immunological, and functional aspects. **Clinical and experimental allergy**, Oxford, v. 37, n. 10, p. 1528-1535, out. 2007.

- COCKCROFT, A. et al. Allergy in laboratory animal workers. **Lancet**, London, v. 1, n. 8224, p. 827-830, abr. 1981.
- COCKCROFT, D. W. Direct challenge tests: Airway hyperresponsiveness in asthma: its measurement and clinical significance. **Chest**, Chicago, v.138, supl. 2, p. 18S-24S, ago. 2010.
- COCKCROFT, D. W. et al. Sensitivity and specificity of histamine PC20 determination in a random selection of young college students. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 89, n. 1, p. 23-30, jan. 1992.
- CORRADI, M.; FERDENZI, E.; MUTTI, A. The characteristics, treatment and prevention of laboratory animal allergy. **Lab Animal**, New York, v. 42, n. 1, p. 26-33, dez. 2012.
- CRAIG, T. J. et al. Aeroallergen sensitization correlates with PC(20) and exhaled nitric oxide in subjects with mild-to-moderate asthma. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 121, n. 3, p. 671-677, jan. 2008.
- CRAPO, R. O. et al. Lung volumes in healthy nonsmoking adults. **Bulletin européen de physiopathologie respiratoire**, Oxford, v. 18, n. 3, p. 419-425, mai./jun. 1982.
- CULLINAN, P. et al. Allergen exposure, atopy and smoking as determinants of allergy to rats in a cohort of laboratory employees. **The European respiratory journal**, Copenhagen, v. 13, n. 5, p. 1139-1143, mai. 1999.
- CULLINAN, P. et al. Work related symptoms, sensitisation, and estimated exposure in workers not previously exposed to laboratory rats. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 51, n. 9, p. 589-592, set. 1994.
- De GROENE, G. J. et al. Workplace interventions for treatment of occupational asthma: a Cochrane systematic review. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 69, n. 5, p.373-374, mai. 2012.
- De MONCHY, J. G. R. et al. Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. **The American review of respiratory disease**, Baltimore, v. 131, n. 3, p. 373-376, mar. 1985.
- DEMOLY, P. et al. Management of the polyallergic patient with allergy immunotherapy: a practice-based approach. **Allergy, asthma, and clinical immunology**, Hamilton, v. 11; p. 12:2. Jan. 2016.
- DOMINGUEZ-ORTEGA, J. et al. Biomarkers in occupational asthma. **Current allergy and asthma reports**, Philadelphia, v. 16, n. 9, p. 63, set. 2016.
- DORESWAMY, V.; PEDEN, D. B. Modulation of asthma by endotoxin. **Clinical and experimental allergy**, Oxford, v. 41, p. 1, p. 9-19, out. 2011.
- DUNGAN, R. S. Airborne endotoxin from indoor and outdoor environments: effects of sample dilution on the kinetic Limulus amoebocyte lysate (LAL) assay. **Journal of occupational and environmental hygiene**, London, v. 8, n. 3, p. 147-153, mar. 2011.
- ELLIOTT, L. et al. Incidence of allergy and allergy symptoms among workers exposed to laboratory animals. **Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 62, n. 11, p. 766-771, nov. 2005.

- FAHY, J. V. Type 2 inflammation in asthma - present in most, absent in many. **Nature reviews. Immunology**, London, v. 15, n. 1, p. 57-65, jan. 2015.
- FATTOUH, R. et al. Eosinophils are dispensable for allergic remodeling and immunity in a model of house dust mite-induced airway disease. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 183, n. 2, p. 179-188, jan. 2011.
- FEARY, J.; CULLINAN, P. Laboratory animal allergy: a new world. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, Hagerstown, v. 16, n. 2, p. 107-112, abr. 2016.
- FERRAZ, E. et al. Laboratory animals and respiratory allergies: The prevalence of allergies among laboratory animal workers and the need for prophylaxis. **Clinics**, São Paulo, v. 68, n. 6, p. 750-759, jun. 2013.
- FINKELMAN, F. D. et al. The role of IL-13 in helminth-induced inflammation and protective immunity against nematode infections. **Current Opinion in Immunology**, London, v. 11, n. 4, p. 420-426, ago. 1999.
- FREITAS, A. S. et al. Exposure to high endotoxin concentration increases wheezing prevalence among laboratory animal workers: a cross-sectional study. **BMC pulmonary medicine**, London, v. 16, n. 1, p. 69, mai. 2016.
- FRIEDMAN-JIMÉNEZ, G. et al. Clinical evaluation, management, and prevention of work-related asthma. **American journal of industrial medicine**, New York, v. 37, n. 1, p. 121-141, jan. 2000.
- GAUTRIN, D. et al. Incidence and host determinants of probable occupational asthma in apprentices exposed to laboratory animals. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 163, n. 4, p. 899-904, mar. 2001.
- GAVETT, S. H. et al. Depletion of murine CD4+ T lymphocytes prevents antigen-induced airway hyperreactivity and pulmonary eosinophilia. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, New York, v.10, n. 6, p. 587-593, jun. 1994.
- GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA - GINA. Global strategy for asthma management and prevention (updated 2017). Disponível em: <<http://ginasthma.org/2017-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>>. Acesso em: 15 dez. 2017.
- GROSS, N. J. Allergy to laboratory animals: epidemiologic, clinical, and physiologic aspects, and a trial of cromolyn in its management. **Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 66, n.2, p. 158-165, ago. 1980.
- GRUNIG, G. et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. **Science**, New York, v. 282, n. 5397, p. 2261-2263, dez. 1998.
- HARRIES, M. G.; CROMWELL, O. Occupational asthma caused by allergy to pigs' urine. **British medical journal (Clinical research ed.)**, London, v. 284, n. 6319, p.867, mar. 1982.
- HEEDERIK, D. et al. Exposure-response relationships for work-related sensitization in workers exposed to rat urinary allergens: results from a pooled study. **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v.103, n. 4, p.678-684, abr. 1999.
- HOLLANDER, A. et al. Comparison of methods to assess airborne rat and mouse allergen levels. I. Analysis of air samples. **Allergy**, Copenhagen, v. 54, n. 2, p. 142-149, fev. 1999.

- HOLLANDER, A.; DOEKES, G.; HEEDERIK, D. Cat and dog allergy and total IgE as risk factors of laboratory animal allergy. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 98, n. 3, p. 545-54, set. 1996.
- HOLLANDER, A.; HEEDERIK, D.; DOEKES, G. Respiratory allergy to rats: exposure-response relationships in laboratory animal workers. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 155, p. 2, p. 562-567, fev. 1997.
- HOLM, M. et al. Remission of asthma: a prospective longitudinal study from northern Europe (RHINE study). **The European respiratory journal**, Copenhagen, v. 30, n. 1, p. 62-65, jul. 2007.
- HUMBERT, M. et al. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and non-atopic asthma: evidence against “intrinsic” asthma being a distinct immunopathologic entity. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 154, n. 5, p. 1497-1504, nov. 1996.
- HUNSKAAR, S.; FOSSE, R, T. Allergy to laboratory mice and rats: a review of the pathophysiology, epidemiology and clinical aspects. **Laboratory Animals**, London, v. 24, n. 4, p. 358-374, out. 1990.
- JANSEN, D. F. (A)symptomatic bronchial hyper-responsiveness and asthma. **Respiratory medicine**, London, v. 91, n. 3, p. 121-134, mar, 1997.
- JEAL, H. et al. Dual sensitization to rat and mouse urinary allergens reflects cross-reactive molecules rather than atopy. **Allergy**, Copenhagen, v. 64, n. 6, p. 855-861, jun. 2009.
- JEAL, H. et al. HLA associations with occupational sensitization to rat lipocalin allergens: a model for other animal allergies? **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Saint Louis, v. 111, n. 4, p. 795-799, abr. 2003.
- JEAL, H. et al. Modified Th2 responses at high-dose exposures to allergen: using an occupational model. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 174, n. 1, p. 21-25, abr. 2006.
- JEAL, H.; JONES, M. Allergy to rodents: an update. **Clinical and experimental allergy**, Oxford, v. 40, n. 11, p. 1593-1601, nov. 2010.
- JONES, M. et al. Rat-specific IgG and IgG₄ antibodies associated with inhibition of IgE-allergen complex binding in laboratory animal workers. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 71, n. 9, p. 619-623, set. 2014a.
- JONES, M. et al. Respiratory protective equipment reduces occurrence of sensitization to laboratory animals. **Occupational medicine**, Oxford, v.64, n. 2, p. 104-108, mar. 2014b.
- JONES, M. Laboratory Animal Allergy in the Modern Era. **Current allergy and asthma reports**, Philadelphia, v. 15, n. 12, p. 73, dez. 2015.
- KENYON, N. J. et al. Occupational Asthma. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, Totowa, v. 43, n. 1-2, p. 3-13, ago. 2012.
- KOGEVINAS, M. et al. Exposure to substances in the workplace and new-onset asthma: an international prospective population-based study (ECRHS-II), **Lancet**, London, v. 370, n. 9584, p. 336-341, jul. 2007.

- KRAKOWIAK, A.; SZULC, B.; GORSKI, P. Occupational respiratory diseases in laboratory animal workers: initial results. **International journal of occupational medicine and environmental health**, Lodz, v. 10, n. 1, p. 31-36. 1997.
- KROP, E. J. et al. Associations between preemployment immunologic and airway mucosal factors and the development of occupational allergy. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 123, n. 3, p. 694-700, mar. 2009.
- KRUIZE, H. et al. Respiratory allergy in laboratory animal workers: a retrospective cohort study using pre-employment screening data. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 54, n. 11, p. 830-835, nov. 1997.
- KUSCHNIR, F. C. et al. ERICA: prevalence of asthma in Brazilian adolescents. **Revista de saúde pública**, São Paulo, v. 50, s. 1, fev. 2016.
- KUWANO, K. et al. Small airways dimensions in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. **American Review of Respiratory Disease**, Baltimore, v. 148, n. 5, p. 1220-1225, nov. 1993.
- LAMBRECHT, B. N; HAMMAD, H. The immunology of asthma. **Nature immunology**, New York, v. 16, n. 1, p. 45-56, jan. 2015.
- LAZARUS, S. C. Inflammation, inflammatory mediators, and mediator antagonists in asthma. **Journal of clinical pharmacology**, Stamford v. 38, n. 7, p. 577-582, jul. 1998.
- LE MOUAL, N. et al. The healthy worker effect in asthma: work may cause asthma, but asthma may also influence work. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 177, n. 1, p. 4-10, jan. 2008.
- LEMIERE, C. et al. Work-exacerbated asthma and occupational asthma: do they really differ? **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 131, n. 3, p. 704-710, mar. 2013.
- LI, X.; WILSON, J. W. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v. 156, n. 1, p. 229-233, jul. 1997.
- LIAO, V. H. et al. A probabilistic approach to quantitatively assess the inhalation risk for airborne endotoxin in cotton textile workers. **Journal of hazardous materials**, Amsterdam, v. 177, n. 1-3, p. 103-108, mai. 2010.
- LIEUTIER-COLAS, F. et al. Prevalence of symptoms, sensitization to rats, and airborne exposure to major rat allergen (Rat n 1) and to endotoxin in rat-exposed workers: a cross-sectional study. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 32, n. 10, p. 1424-1429, out. 2002.
- LIN, Z. et al. The first 2-year home environment in relation to the new onset and remission of asthmatic and allergic symptoms in 4246 preschool children. **The Science of the total environment**, Amsterdam, v. 553, p. 204-210, mai. 2016.
- MAESTRELLI, P. et al. Mechanisms of occupational asthma. **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 123, n. 3, p. 531-542, mar. 2009.

- MALO, J. L. et al. An official American Thoracic Society Workshop Report: presentations and discussion of the fifth Jack Pepys Workshop on Asthma in the Workplace. Comparisons between asthma in the workplace and non-work-related asthma. **Annals of the American Thoracic Society**, New York, v. 12, n. 7, p. 99-110, jul. 2015.
- MAPP, C. E. et al. Occupational asthma. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 172, n. 3, p. 280-305, ago. 2005.
- MASOLI, M. et al. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. **Allergy**, Copenhagen, v.59, n. 5, p. 469-478, mai. 2004.
- MCKENZIE, G. J. et al. A distinct role for interleukin-13 in Th2-cell-mediated immune responses. **Current Biology**, London, v. 8, n. 6, p. 339-342, mar. 1998.
- MIGUERES, M et al. Types of sensitization to aeroallergens: definitions, prevalences and impact on the diagnosis and treatment of allergic respiratory disease. **Clinical and translational allergy**, London, v.4, n. 16, eCollection, mai. 2014.
- MOGHTADERI, M.; FARJADIAN, S.; ABBASZADEH HASIRI, M. Animal allergen sensitization in veterinarians and laboratory animal workers. **Occupational medicine**, Oxford, v. 64, n. 7, p. 516-520, out. 2014.
- MOSMANN, T. R. et al. Two Types of Murine Helper T Cell Clone I. Definition According to Profiles of Lymphokine Activities and Secreted Proteins. **The journal of immunology**, Bethesda, v. 136, n. 7, p. 2348-2357, abr. 1986.
- MULHOLLAND, A.; AINSWORTH, A.; PILLARISETTI, N. Tools in Asthma Evaluation and Management: When and How to Use Them? **Indian journal of pediatrics**, New Delhi, v.85, n. 8, p. 651-657, nov. 2017.
- MUÑOZ, X. et al. Work-related asthma: diagnosis and prognosis of immunological occupational asthma and work-exacerbated asthma. **Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology**, Barcelona v. 24, n. 6, p. 396-405, 2014.
- MUZEMBO, B. A. et al. Prevalence of Occupational Allergy in Medical Researchers Exposed to Laboratory Animals. **Industrial health**, Kawasaki, v. 52, n. 3, p. 256-261, fev. 2014.
- NGUYEN, B. et al. Time course of onset of sensitization to common and occupational inhalants in apprentices. **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 111, n. 4, p. 807-812, abr. 2003.
- NICHOLSON, P. J. et al. Health surveillance of workers exposed to laboratory animal allergens. **Occupational medicine**, Oxford, v. 60, n.8, p. 591-597, dez. 2010.
- NIEUWENHUIJSEN, M. J. et al. Exposure-response relations among laboratory animal workers exposed to rats, **Occupational and environmental medicine**, London, v. 60, n. 2, p. 104-108, fev. 2003.
- NOSS, I. et al. Evaluation of a low-cost electrostatic dust fall collector for indoor air endotoxin exposure assessment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, n. 18, p. 5621-5627, ago. 2008.

- NOURI-ARIA, K. T. et al. Grass pollen immunotherapy induces mucosal and peripheral IL-10 responses and blocking IgG activity. **Journal of immunology**, Baltimore, v. 172, n. 5, p. 3252-3259, mar. 2004.
- OLIN, J. T.; WECHSLER, M. E. Asthma: pathogenesis and novel drugs for treatment. **BMJ**, London, v. 349, nov. 2014.
- OLIVIERI, M. et al. Risk factors for new-onset cat sensitization among adults: a population-based international cohort study. **The Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 129, n. 2, p. 420-425, dez. 2012.
- ORDOÑEZ, C. et al. Epithelial desquamation in asthma: artifact or pathology? **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 162, n. 6, p. 2324-2329, dez. 2000.
- PACHECO, K. A. et al. Gene-environment interactions influence airways function in laboratory animal workers. **The journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 126, n. 2, p. 232-240, ago. 2010.
- PALMBERG, L. et al. Long term effect and allergic sensitization in newly employed workers in laboratory animal facilities. **Respiratory Medicine**, London, v. 109, n. 9, p. 1164-1173, set. 2015.
- PAPI, A. et al. Asthma. **Lancet**, London, v. 391, n. 10122, p. 783-800, dez. 2017.
- PARK, Y. B. et al. Association between pet ownership and the sensitization to pet allergens in adults with various allergic diseases. **Allergy, asthma & immunology research**, Seoul, v. 5, n. 5, p. 295-300, set. 2013.
- PAUWELS, R.; JOOS, G.; VAN DER STRAETEN, M. Bronchial hyperresponsiveness is not bronchial hyperresponsiveness is not bronchial asthma. **Clinical allergy**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 317-321, jul. 1988.
- PENG, R. D. et al. Both the variability and level of mouse allergen exposure influence the phenotype of the immune response in workers at a mouse facility. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Saint Louis, v. 128, n. 2, p. 390-396, ago. 2011.
- PERKINS, C.; WILLS-KARP, M.; FINKELMAN, F. D. IL-4 induces IL-13-independent allergic airway inflammation. **Journal allergy and Clinical Immunology**, St Louis, v. 118, n. 2, p. 410-419, ago. 2006.
- PESCE, G. et al. Seventy Years of Asthma in Italy: Age, Period and Cohort Effects on Incidence and Remission of Self-Reported Asthma from 1940 to 2010. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 10, 2015.
- PINNOCK, H. et al. Systematic meta-review of supported self-management for asthma: a healthcare perspective. **BMC medicine**, London, v. 15, n. 1, p. 64, mar. 2017.
- PLATTS-MILLS, J. et al. The effects of cage design on airborne allergens and endotoxin in animal rooms: high-volume measurements with an ion-charging device. **Contemporary topics in laboratory animal science**, Cordova, v. 44, n. 2, p. 12-16, mar. 2005.
- PORTENGEN, L. et al. Lung function decline in laboratory animal workers: the role of sensitization and exposure. **Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 60, n. 11, p. 870-875, nov. 2003.

- PRALONG, J. A.; CARTIER, A. Review of diagnostic challenges in occupational asthma. **Current allergy and asthma reports**, Philadelphia, v. 17, n. 1, p. 1, jan. 2017.
- RABELL-SANTACANA, V. et al. Prevalence of Work-Related Asthma in Primary Health Care: Study Rationale and Design, **The open respiratory medicine journal**, Hilversum, v. 9, p. 127-139, nov.2015
- RAJKA, G. Ten cases of occupational hypersensitivity to laboratory animals. **Allergy**, Copenhagen, v. 16, n. 2, p. 168-176, abr. 1961.
- RENSTRÖM, A. et al. Allergic sensitization is associated with increased bronchial responsiveness: a prospective study of allergy to laboratory animals. **The European Respiratory Journal**, Sheffield, v. 8, n. 9, p. 1514-1519, set. 1995.
- RENTROM, A. et al. Working with male rodents may increase risk of allergy to laboratory animals. **Allergy**, Copenhagen, v. 56, n. 10, p. 964-970, out. 2001.
- RIBEIRO, M. et al. Validation of the Brazilian-Portuguese version of the European Community Respiratory Health Survey in asthma patients. **Journal Asthma**, London, v. 44, n. 5, p. 371-375, jun. 2007.
- RIBEIRO, M. et al. Validation of the Brazilian-Portuguese version of the European Community Respiratory Health Survey in asthma patients. **The Journal of asthma**, London, v. 44, n. 5, p.371-375, jun. 2007.
- ROCHE, W. R. et al. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. **Lancet**, London, v. 1, n. 8637, p. 520-524, mar. 1989.
- RULLO, V. E. V. et al. Exposição a Alérgenos e a Endotoxina, Sensibilização e Expressão Clínica da Doença Alérgica: Estudo de Coorte. **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 292-297, nov./dez. 2005.
- SCHNUCH, A.; BRASCH, J.; UTER, W. Polysensitization and increased susceptibility in contact allergy: a review. **Allergy**, Copenhagen, v. 63, n. 2, p. 156-167, fev. 2008.
- SCHOFIELD, M. L. Asthma pharmacotherapy. **Otolaryngology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 47, n. 1, p. 55-64, fev. 2014.
- SCHRAM, D. et al. Bacterial and fungal components in house dust of farm children, Rudolf Steiner school children and reference children – the PARSIFAL Study. **Allergy**, Copenhagen, v. 60, n. 5, p. 611-618, mai. 2005.
- SHUMACHER, M. J.; TAIT, B. D.; HOLMES, M. C. Allergy to murine antigens in a biological research institute. **Journal of allergy and clinical immunology**, St Louis, v. 68, n. 4, p. 310-318. 1981.
- SIEGEL, J. D. et al. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Health Care Settings. **American journal of infection control**, St. Louis, v. 35, p. 65-164, dez. 2007
- SIMONETI, C. S. et al. Study of risk factors for atopic sensitization, asthma, and bronchial hyperresponsiveness in animal laboratory workers. **Journal of Occupational Health**, Tokyo, v. 58, n. 1, p. 7-15, 2016.

SLOVAK, A. J.; HILL, R. N. Does atopy have any predictive value for laboratory animal allergy? A comparison of different concepts of atopy. **British journal of industrial medicine**, London, v. 44, n. 2, p. 129-132, fev. 1987.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Diretrizes da sociedade brasileira de pneumologia e tisiologia para o manejo da asma 2012. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília, v. 38, s. 1, s. 1-46, abr. 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Diretrizes para testes de função pulmonar. **Jornal de Pneumologia**, Brasília, v. 28, s. 3, p. 1-238, jan/fev. 2002.

SONG, D. J. et al. Anti-Siglec-F antibody reduces allergen-induced eosinophilic inflammation and airway remodeling. **Journal of immunology**, Baltimore, v. 183, n. 8, p. 5333-5341, out. 2009.

SORRELL, A. H.; GOTTESMAN, J. Mouse allergy: case report. **Annals of allergy**, McLean, v. 15 n. 6, p. 662-663, nov. 1957.

STAVE, G. M.; DARCEY, D. J. Prevention of laboratory animal allergy in the United States: a national survey. **Journal of occupational and environmental medicine**, Baltimore, v. 54, n. 5, p. 558-563, mai. 2012.

Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Skin tests used in type I allergy testing Position paper. **Allergy**, Copenhagen, v. 34, supl. 10, p. 1-59, 1989.

SUMI, Y.; HAMID, Q. Airway remodeling in asthma. **Allergology international**, Carlton, v. 56, n. 4, p. 341-348, dez. 2007.

SUOJALEHTO, H. et al. 3-(Bromomethyl)-2-chloro-4-(methylsulfonyl)- benzoic acid: a new cause of sensitiser induced occupational asthma, rhinitis and urticaria. **Occupational and environmental medicine**, London, v. 75, n. 4, p.277-282, abr. 2018.

TARLO, S. M. et al. Diagnosis and management of work-related asthma: American College Of Chest Physicians Consensus Statement. **Chest**, Chicago, v. 134, n. 3, p. 1-41, set. 2008.

TARLO, S. M. Management and prevention of occupational asthma. **Minerva medica**, Torino, v. 108, n. 3, p. 229-238, jun. 2017.

TARLO, S. M.; LEMIERE, C. Occupational asthma. **The new england journal of medicine**, Boston, v. 370, n. 7, p. 640-649, fev. 2014.

TAYLOR, A. N.; LONGBOTTOM, J. L.; PEPYS, J. Respiratory allergy to urine proteins of rats and mice. **Lancet**, London, v. 2, n. 8043, p. 847-849, out. 1977.

THORNE, P. S. et al. Endotoxin exposure is a risk factor for asthma: the national survey of endotoxin in U.S. housing. **American journal of respiratory and critical care medicine**, New York, v. 172, n. 11, p. 1371-1377, dez. 2005.

TOPPILA-SALMI S. et al. Sensitization pattern affects the asthma risk in Finnish adult population. **Allergy**, Copenhagen, v.70, n. 9, p. 1112-1120, jul. 2015.

TOSKALA, E.; KENNEDY, D. W. Asthma risk factors. **International forum of allergy & rhinology**, Hoboken, v. 5, n. 1, p. 11-16, set. 2015.

- VANDENPLAS, O. et al. EAACI position paper: irritant-induced asthma. **Allergy**, Copenhagen, v. 69, n. 9, p. 1141-1153, set. 2014.
- VANDENPLAS, O. et al. Occupational asthma caused by an epoxy amine hardener. **Occupational medicine**, Oxford, v. 67, n. 9, p. 722-724, dez. 2017.
- VANDENPLAS, O. et al. What is the optimal management option for occupational asthma? **European Respiratory Review**, Sheffield, v. 21, n. 124, p. 97-104, jun. 2012.
- VANDENPLAS, O.; SUOJALEHTO, H.; CULLINAN, P. Diagnosing occupational asthma. **Clinical and experimental allergy**, Oxford, v. 47, v. 1, 6-18, jan. 2016.
- VENABLES, K. M. et al. Smoking, atopy, and laboratory animal allergy. **British journal of industrial medicine**, London, v. 45, n. 10, p. 667-671, out. 1988.
- VENGE, P. Eosinophil activity in bronchial asthma. **Allergy and Asthma Proceedings**, Providence, v. 15, n. 3, p.139-141, mai./jun. 1994.
- VOS, T. et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet**, London, v. 380, n. 9859, p. 2163-2196, dez. 2012.
- WARNER, J. O. et al. Inflammatory mechanisms in childhood asthma. **Clinical and experimental allergy**, Oxford, v. 28, n. 5, p. 71-75, nov. 1998.
- WILLS-KARP, M. et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. **Science**, New York, v. 282, n. 5397 p. 2258-2261, dez. 1998.
- WOLFLE, T. L.; BUSH, R. K. The science and pervasiveness of laboratory animal allergy. **Institute of Laboratory Animal Research**, Oxford, v. 42, n. 1, p. 1-3, 2001.
- WOOD, R. A. Laboratory Animal Allergens, **Institute of Laboratory Animal Research**, Oxford, v. 42, n 1, p. 12-16, jan. 2001.
- ZOCK, J. P.; VIZCAYA, D.; LE MOUAL, N. Update on asthma and cleaners. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, Hagerstown, v. 10, n. 2, p. 114-120, abr. 2010.
- ZOU, G. A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data. **American Journal of Epidemiology**, Cary, v. 159, n. 7, p. 702-706, abr. 2004.

Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - HCFMRP – USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, 05 de outubro de 2009

Ofício nº 3353/2009
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“ASMA, RINITE E ALERGIA ASSOCIADAS À EXPOSIÇÃO A ANIMAIS DE LABORATÓRIO: AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA, FATORES DE RISCO E DA NECESSIDADE DE PROFILAXIA”** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 296ª Reunião Ordinária realizada em 28/09/2009 e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 9428/2009.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

ÉRICA FERRAZ

PROF. DR. ELCIO DOS SANTOS OLIVEIRA VIANNA (Orientador)

Depto. de Clínica Médica

Anexo 2. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 23/11/09.
(Grupo III)

PARECER CEP: N° 779/2009 (Este n° deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0612.0.146.000-09

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “ASMA, RINITE ALÉRGICA ASSOCIADA À EXPOSIÇÃO A ANIMAIS DE LABORATÓRIO: AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA, FATORES DE RISCO E DA NECESSIDADE DE PROFILAXIA”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Érica Ferraz.

INSTITUIÇÃO: Departamento de Medicina Preventiva e Social/FCM/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 03/09/2009

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 23/11/10 (O formulário encontra-se no *site* acima)

II - OBJETIVOS

Avaliar a prevalência e fatores de alergia, asma e rinite em indivíduos expostos a biotérios e/ou laboratórios de pesquisa com animais. 2. Avaliar quais medidas de profilaxia de alergia, asma, rinite são atualmente empregadas nestes ambientes. 3. Constituir uma coorte para estudos longitudinais de indivíduos expostos nestes ambientes.

III - SUMÁRIO

Desenho do estudo: estudo transversal para identificar grupos de trabalhadores de biotérios e/ou laboratórios que estejam propensos a desenvolver alergia, asma, rinite. Os voluntários serão os funcionários dos laboratórios com longo tempo de exposição, funcionários com curto período de exposição e indivíduos não expostos. Após aceitação de participação do estudo, os voluntários responderão a questionário investigatório, farão teste cutâneo, espirometria e teste de broncoprovocação. Grupo exposto definido por funcionários que trabalham com animais de pequeno porte - prevista a inclusão de 263 indivíduos. Grupo controle - voluntários que não possuem histórico de contato com animais de laboratório - previsto 263 voluntários. Análise estatística será realizada pelo programa STATA, análise descritiva, testes univariados e análise de regressão.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Após respostas às pendências, o projeto encontra-se adequadamente redigido e de acordo com a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

V - PARECER DO CEP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII- DATA DA REUNIÃO

Homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 22 de setembro de 2009.

Profa. Dra. *Carmen* Silvia Bertuzzo
VICE PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM/UNICAMP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

Anexo 3. Questionário**ID:** _____ **Data:** ____/____/____**Nome:** _____**01.** Você tem ou já teve asma?☐ Não ☐ Sim ☐ Não sabe**→ Se respondeu “NÃO” ou “NÃO SABE” passar para a pergunta 10.****02.** A asma foi diagnosticada por um médico?☐ Não ☐ Sim ☐ Não sabe**03.** Que idade tinha quando teve o primeiro ataque de asma?anos**04.** Que idade tinha quando teve sintomas de asma pela última vez?anos**05.** Quantos ataques de asma teve nos últimos 12 meses?**06.** Quantos ataques de asma teve nos últimos 3 meses?**07.** Quantas vezes acordou por causa de um ataque de asma nos últimos 3 meses?☐ 5 ou mais vezes/semana (quase todos os dias)☐ 1 a 4 vezes/semana (toda semana)☐ Menos de 1 vez/semana (não é toda semana)☐ Não sabe**08.** Quanto que a asma incomodou nos últimos 3 meses?☐ Continuamente☐ Uma vez por dia☐ Menos de uma vez por dia, mas toda semana☐ Menos de uma vez por semana (não é toda semana)☐ Não sabe

09. Algum médico deu-lhe instruções por escrito indicando como tratar sua asma ou o que fazer quando acontece um ataque?

() Não () Sim () Não sabe

10. Você evita fazer exercícios porque fica difícil respirar ou porque tem falta de ar?

() Não () Sim () Não sabe

11. Você teve chiados ou assobios no peito, alguma vez, nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “NÃO” ou “NÃO SABE” passar para a pergunta 14.

12. Sentiu falta de ar quando aconteceram estes chiados?

() Não () Sim () Não sabe

13. Teve estes chiados ou assobios mesmo sem estar resfriado?

() Não () Sim () Não sabe

14. Acordou alguma vez nestes últimos 12 meses com sensação de aperto no peito?

() Não () Sim () Não sabe

15. Você sentiu falta de ar durante o dia, em repouso, alguma vez nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

16. Acordou durante a noite, por falta de ar, nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

17. Sentiu falta de ar depois de fazer exercícios físicos intensos nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

18. Sente falta de ar quando caminha em terreno plano ou numa subida?

() Não () Sim () Não sabe

19. Você tem dificuldade para caminhar por causa de alguma doença que não é do coração ou do pulmão?

() Não () Sim, qual a causa?

.....

20. Você tosse habitualmente ao levantar-se?

() Não () Sim () Não sabe

21. Tosse habitualmente de dia ou de noite?

() Não () Sim () Não sabe

22. Costuma eliminar catarro ao levantar-se? **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

() Não () Sim () Não sabe

23. Costuma eliminar catarro durante o dia ou a noite?

() Não () Sim () Não sabe

24. Você tem rinite (alergia no nariz)?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 26.

25. Que idade você tinha quando ocorreu pela primeira vez?anos

26. Teve alguma vez secreção nasal ou o nariz entupido sem estar resfriado?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 29.

27. Teve alguma vez secreção nasal ou o nariz entupido, sem estar resfriado, nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 29.

28. Quando tem este problema, apresenta também olhos vermelhos e irritados?

() Não () Sim () Não sabe

29. Já teve alguma vez eczema ou outro tipo de alergia de pele?

() Não () Sim () Não sabe

30. Teve vermelhidão e irritação da pele que aparecem e desaparecem nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 32.

31. Esta irritação e vermelhidão tem afetado algum dos seguintes lugares: dobra de cotovelos, atrás do joelho, canelas, embaixo das nádegas, ao redor do pescoço, orelhas ou olhos?

() Não () Sim () Não sabe

32. É alérgico a picadas de insetos?

() Não () Sim, quais insetos?
.....

33. Você toma diariamente algum tipo de medicação?

() Não () Sim, quais medicações?
.....

→ Se respondeu “**NÃO**” passar para a pergunta 37.

Se você tomou algum medicamento para suas doenças respiratórias, congestão nasal ou alergia na pele, nos últimos 12 meses, assinale quais: **Escolha até 3 medicamentos, os que achar mais importantes para o tratamento.**

34. Medicamento 1:

Nome:

Nº de vezes ao dia:

Último dia em que tomou:

(exemplo: há 2 dias)

Via de administração:

() Injetável

() Inalado

() Líquido

() Comprimido

() Nebulizado

() Tópico

35. Medicamento 2:

Nº de vezes ao dia:

Último dia em que tomou:

(exemplo: há 2 dias)

Via de administração:

☐ Injetável☐ Inalado☐ Líquido☐ Comprimido☐ Nebulizado☐ Tópico**36. Medicamento 3:**

Nº de vezes ao dia:

Último dia em que tomou:

(exemplo: há 2 dias)

Via de administração:

☐ Injetável☐ Inalado☐ Líquido☐ Comprimido☐ Nebulizado☐ Tópico**37. Toma regularmente aspirinas (ou AAS)?**☐ Não☐ Sim☐ Não sabe**→ Se respondeu “NÃO” ou “NÃO SABE” passar para a pergunta 39.****38. Com que frequência toma?**☐ Diária☐ Semanal☐ Ocasional**39. Toma Paracetamol (Tylenol, Acetaminofen)?**☐ Não☐ Sim☐ Não sabe**→ Se respondeu “NÃO” ou “NÃO SABE” passar para a pergunta 41.**

40. Com que frequência toma?

- ☐ Diária
☐ Semanal
☐ Ocasional

41. É alérgico a algum medicamento?

- ☐ Não ☐ Sim, quais medicamentos?.....
.....

→ Se respondeu “**NÃO**” passar para a pergunta 44.

42. Quando toma esse(s) medicamento(s), aparece reação de pele, olho, nariz ou garganta?

- ☐ Não ☐ Sim ☐ Não sabe

43. Quando toma esse medicamento aparece falta de ar, tosse ou chiado?

- ☐ Não ☐ Sim ☐ Não sabe

44. É alérgico a algum alimento?

- ☐ Não ☐ Sim, quais alimentos?.....
.....

45. É alérgico a alguma planta?

- ☐ Não ☐ Sim, quais plantas?.....
.....

46. Somente para mulheres. Se for homem, pule para a questão 47.

Você tem reparado se seus problemas respiratórios (chiados, aperto no peito, dificuldade para respirar) ocorrem em algum momento especial de seu ciclo menstrual?

- ☐ Não
☐ Sim, na semana antes da menstruação
☐ Sim, durante a menstruação
☐ Sim, na semana depois da menstruação
☐ Sim, mas não é perto da menstruação
☐ Não, pois não tenho menstruação
☐ Não, pois não tenho problemas respiratórios

Quando está perto de animais (gatos, cachorros, cavalos) ou perto de panos (incluindo almofadas, colchas), você:

47. começa a tossir? () Não () Sim
48. começa a ter chiados ou assobios no peito ? () Não () Sim
49. tem a sensação de aperto no peito? () Não () Sim
50. começa a sentir falta de ar? () Não () Sim
51. tem nariz entupido, escorrendo ou espirra? () Não () Sim
52. tem irritação nos olhos ou lágrimas? () Não () Sim

Quando está perto de lugares com pó ou logo depois de varrer, você:

53. começa a tossir? () Não () Sim
54. começa a ter chiados ou assobios no peito ? () Não () Sim
55. tem a sensação de aperto no peito? () Não () Sim
56. começa a sentir falta de ar? () Não () Sim
57. tem nariz entupido, escorrendo ou espirra? () Não () Sim
58. tem irritação nos olhos ou lágrimas? () Não () Sim

Quando está perto de árvores, arbustos ou flores, você:

59. começa a tossir? () Não () Sim
60. começa a ter chiados ou assobios no peito ? () Não () Sim
61. tem a sensação de aperto no peito? () Não () Sim
62. começa a sentir falta de ar? () Não () Sim
63. tem nariz entupido, escorrendo ou espirra? () Não () Sim
64. tem irritação nos olhos ou lágrimas? () Não () Sim

65. Qual a data de admissão na atividade (estudo ou trabalho) atual: **(exemplo, março/2005)**

.....

66. Qual a sua jornada de trabalho? **(exemplo: 8 horas/dia, 5 dias na semana)**

.....

67. Você tem contato com animais ou frequenta ambientes com animais em sua atividade (estudo ou trabalho)? Por exemplo, uma faxineira que limpa locais por onde passam animais de laboratório.

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 71.

68. Com quais animais você tem contato em seu local de trabalho?

☐ Não sabe qual animal

☐ **Rato**

☐ Macho ☐ Fêmea ☐ Não sabe se macho ou fêmea

☐ **Camundongo**

☐ Macho ☐ Fêmea ☐ Não sabe se macho ou fêmea

☐ **Cobaia**

☐ Macho ☐ Fêmea ☐ Não sabe se macho ou fêmea

☐ **Coelho**

☐ Macho ☐ Fêmea ☐ Não sabe se macho ou fêmea

☐ **Hamster**

☐ Macho ☐ Fêmea ☐ Não sabe se macho ou fêmea

☐ Outros animais: Quais?
.....

69. Qual a frequência de contato com esses animais?

☐ Todos os dias da semana de trabalho

☐ A maioria dos dias da semana de trabalho

☐ Poucos dias da semana de trabalho

☐ Nem todas as semanas de trabalho

☐ Não sabe

70. Nos dias em que você trabalha, qual é o tempo de contato com os animais?

☐ O tempo todo

☐ A maior parte do tempo

☐ Uma pequena parte do tempo

() Não sabe

71. No passado, você trabalhou ou estudou em locais com animais (exemplo, laboratórios ou biotérios)?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 74.

72. No total, quanto esses contatos prévios com animais duraram? (exemplo: 5 meses)

.....

73. Quais animais você tinha contato nessa atividade (estudo ou trabalho) anterior?

() Não sabe qual animal

() **Rato**

() Macho () Fêmea () Não sabe se macho ou fêmea

() **Camundongo**

() Macho () Fêmea () Não sabe se macho ou fêmea

() **Cobaia**

() Macho () Fêmea () Não sabe se macho ou fêmea

() **Coelho**

() Macho () Fêmea () Não sabe se macho ou fêmea

() **Hamster**

() Macho () Fêmea () Não sabe se macho ou fêmea

() Outros animais: Quais?

74. Você tem ou teve no último ano animais de estimação em casa?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 77.

75. Quais animais de estimação você tem ou teve no último ano em casa?

() Gato

() Cachorro

() Pássaros

() Outros: Quais?

76. Qual a frequência de contato com animais de estimação?

() Todos os dias da semana

() A maioria dos dias da semana

() Poucos dias da semana

() Não tem contato

() Não sabe

77. Alguma vez, as atividades desenvolvidas em qualquer um de seus trabalhos causaram chiados ou apertos no peito?

() Não () Sim, qual trabalho?

78. Alguma vez teve que mudar de trabalho ou deixar seu emprego porque atacava sua respiração?

() Não () Sim, qual trabalho?

79. A qual destas coisas você se expôs em suas atividades (estudos ou trabalhos) atuais ou prévias:

	NÃO	SIM	NÃO SABE
Calor (por exemplo, fornos e caldeiras)	()	()	()
Frio (por exemplo, frigoríficos e gelo)	()	()	()
Umidade (por exemplo, subterrâneos e porões)	()	()	()
Poeiras (por exemplo, pó de madeira)	()	()	()
Vapores (por exemplo, cozinhas)	()	()	()
Gases (por exemplo, anestésicos e medicamentos)	()	()	()
Químicos (por exemplo, formol, ácidos e produtos de limpeza)	()	()	()
Tintas (por exemplo, líquida, spray ou de compressor)	()	()	()
Fumaças (por exemplo, queimadas e fogões de lenha)	()	()	()

Outras exposições ou informações:

80. Antes de você entrar na escola, alguém fumava em sua casa?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 82.

81. Se “SIM”, quem fumava? (exemplo: pai, mãe, irmão mais velho)

82. Você fuma ou fumou por mais de 1 ano?

() Não () Sim () Não sabe

→ Se respondeu “**NÃO**” ou “**NÃO SABE**” passar para a pergunta 85.

83. Você fuma atualmente (nos últimos 30 dias)?

() Não () Sim () Não sabe

84. Quantos cigarros por dia você fuma ou fumava em média?cigarros

85. Esteve exposto com regularidade na maioria de dias ou noites ao fumo nos últimos 12 meses?

() Não () Sim () Não sabe

86. Sem contar você, quantas pessoas fumam com regularidade em sua casa?
.....pessoas

87. No seu local de trabalho, há máscaras respiratórias disponíveis para uso?

() Não () Sim () Não sabe

88. Você faz uso de máscaras quando tem contato com animais ou com ambiente de animais onde estuda ou trabalha?

() Sim, todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais

() Sim, mas nem todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais

() Não, não uso quando tenho contato com animais ou com ambiente de animais

89. No seu local de trabalho, há óculos ou viseiras de proteção disponíveis para uso?

() Não () Sim () Não sabe

90. Você faz uso de óculos ou viseiras de proteção quando tem contato com animais ou com ambiente de animais onde estuda ou trabalha?

() Sim, todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais
() Sim, mas nem todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais
() Não, não uso quando tenho contato com animais ou com ambiente de animais

91. No seu local de trabalho, há luvas disponíveis para uso?

() Não () Sim () Não sabe

92. Você faz uso de luvas quando tem contato com animais ou com ambiente de animais onde estuda ou trabalha?

() Sim, todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais
() Sim, mas nem todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais
() Não, não uso quando tenho contato com animais ou com ambiente de animais

93. No seu local de trabalho, há calçados disponíveis para se usar só naquele local?

() Não () Sim () Não sabe

94. Você faz uso desses calçados quando tem contato com animais ou com ambiente de animais onde estuda ou trabalha?

() Sim, todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais
() Sim, mas nem todas as vezes que tenho contato com animais ou com ambiente de animais
() Não, não uso quando tenho contato com animais ou com ambiente de animais

95. Você já participou de alguma reunião sobre alergia, asma ou rinite causada pelo contato com animais?

() Não () Sim () Não sabe

96. Você já recebeu alguma orientação verbal sobre alergia, asma ou rinite causada pelo contato com animais?

() Não () Sim () Não sabe

97. Você já leu textos, instruções ou manuais sobre alergia, asma ou rinite causada pelo contato com animais?

() Não

() Sim

() Não sabe

Neste espaço, acrescente informações que achar relevante e que não perguntamos no questionário:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Anexo 4. Artigo publicado no periódico *Clinical & Experimental Allergy*

Received: 7 February 2017 | Revised: 21 June 2017 | Accepted: 6 July 2017

DOI: 10.1111/cea.12994

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

Epidemiology of Allergic Disease

Allergic sensitization to laboratory animals is more associated with asthma, rhinitis, and skin symptoms than sensitization to common allergens

C. S. Simoneti¹ | E. Ferraz² | M. B. de Menezes¹ | E. Bagatin³ | L. K. Arruda¹ |
E. O. Vianna¹ ¹Department of Medicine, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil²Regional University Center of Espírito Santo do Pinhal, Espírito Santo do Pinhal, Brazil³Faculty of Medical Sciences, Department of Preventive and Social Medicine, State University of Campinas, Campinas, Brazil

Correspondence

Elcio Oliveira Vianna, Department of Medicine, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil.

Email: evianna@fmrp.usp.br

Funding information

São Paulo Research Foundation (FAPESP) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Brazil).

Summary

Background: Workers exposed to laboratory animals have a high risk of developing laboratory animal allergy (LAA). Atopy seems to be the main risk factor for LAA. We hypothesized that occupational sensitization is a better predictor for the development of asthma, rhinitis, and bronchial hyperresponsiveness (BHR) than common sensitization.**Objective:** To investigate the association between occupational sensitization to laboratory animals and clinical outcomes.**Methods:** This was a cross-sectional study performed at two universities on students and employees dealing with small rodents. The subjects were allocated in groups: non-sensitized, common sensitization, or occupational sensitization, according to the results of the skin prick test (SPT). All subjects answered a questionnaire about animal exposures, symptoms, allergic diseases, and underwent spirometry and bronchial challenge test with mannitol. Multivariate analysis was performed using Poisson regression to estimate the prevalence ratio (PR).**Results:** Data from 453 volunteers were analysed. Non-sensitized group comprised 237 subjects; common sensitization group, 142 subjects; and occupational sensitization group, 74 subjects. Occupational sensitization was associated with greater risk for all outcomes studied. When the common sensitization group was reference, skin symptoms had PR of 1.36, 95% confidence interval (CI): 1.01-1.85; wheezing had PR of 1.75, CI 95%: 1.21-2.53; rhinitis had PR of 1.25, 95%: 1.11-1.40; nocturnal dyspnoea had PR of 2.40, 95% CI: 1.31-4.40; bronchial hyperresponsiveness (BHR) had PR of 2.47, 95% CI: 1.50-4.09; and confirmed asthma had PR of 2.65, 95% CI: 1.45-4.85. In addition, the overlap of asthma, rhinitis, and skin symptoms in a same subject was significantly more prevalent in the occupational sensitization group, 16.2% versus 4.9% in the common sensitization group.**Conclusion and Clinical Relevance:** Occupational sensitization is associated with allergic symptoms and respiratory diseases. SPT with occupational allergens along with other parameters may contribute to detection of risk for allergic and respiratory diseases associated with exposure to laboratory animals.

KEYWORDS

asthma, bronchial hyperreactivity, diagnosis, epidemiology, occupational allergies, rhinitis, work

1 | INTRODUCTION

Workers exposed to laboratory animals have a high risk of developing allergy. The development of allergic reactions to laboratory animals is known as laboratory animal allergy (LAA),¹ defined as a syndrome characterized by conjunctivitis, rhinitis, urticaria, and asthma.² Different definitions of LAA can be found (based on reported symptoms or laboratory tests), which makes this disease prevalence range from 11% to 44%,³ with symptoms ranging from mild rhinitis to severe asthma.^{1,4}

Atopy is observed in up to 45% of the population of industrialized countries⁵; however, most atopic workers do not become sensitized to occupational allergens.⁶ Occupational sensitization is found in approximately 16% of workers exposed to laboratory animals.⁷ After sensitization to occupational allergens, very small exposures to sensitizing agents can induce asthma, which is often associated with rhinoconjunctivitis.⁸

Most studies did not discriminate between common sensitization and occupational sensitization. This discrimination may help to assess the risk of occupational sensitization with or without common sensitization. We believe that among workers with occupational sensitization, continuous exposure to occupational allergens is associated with higher risk of allergic reactions as compared to exposed workers with only common sensitization, that is occupational sensitization is a major determinant of allergic diseases. Thus, this study was aimed to investigate the association between occupational sensitization to laboratory animals and clinical outcomes.

2 | METHODS

This was a cross-sectional study conducted at two universities, the University of São Paulo at Ribeirão Preto (USP-RP) and the State University of Campinas (UNICAMP), São Paulo state, Brazil. Sample selection and the study protocol have been previously described.⁷ Study subjects were workers and students exposed to laboratory animals. Data were collected in loco, that is, in the workplace, and all procedures were performed on Wednesdays, Thursdays, and Fridays. At least 90% of the subjects in each workplace consented to participate; the overall consent and participation rate were 95%.⁷ The study was reviewed and approved by the Ethics Committees of both institutions: Medical School of Ribeirão Preto, USP-RP (protocol number 9428/2009), and the School of Medical Sciences, UNICAMP (protocol number 779/2009). Written informed consent was obtained from all subjects after reading and discussing the protocol individually.

2.1 | Skin prick test

Skin prick tests (SPTs) were applied according to the recommendations of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology.⁹ All subjects refrained from taking antihistamine drugs for 15 days prior to SPT. A weal diameter of at least 3 mm was considered positive in the absence of a reaction to physiological saline solution and in the presence of a positive reaction to histamine. The allergens included common allergens (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, *Felis domesticus*, *Canis familiaris*, *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, and mixed grass) and extracts from laboratory animals (rat, rabbit, mouse, hamster, and guinea-pig). These were called occupational allergens. Individuals were allocated in groups according to the sensitization status.

2.2 | Questionnaire

A self-administered questionnaire with 97 questions was used to inquire about respiratory, nasal, ocular, and skin symptoms and personal history of allergic diseases, smoking, and pet owning. The questionnaire items also included job characteristics, such as the duration of working with laboratory animals, job titles, job contents, frequency of contact with laboratory animals, time spent handling animals, species, use of protective equipment, and knowledge about animal-induced allergies, asthma, or rhinitis. To assess symptoms, we used questions from the European Community Respiratory Health Survey questionnaire, which has been translated into Portuguese, adapted to the Brazilian lexicon, and validated.¹⁰

2.3 | Spirometry and bronchial challenge test with mannitol

Spirometry was performed using a Koko spirometer and its software (PDS Instrumentation, Inc., Louisville, CO, USA) following international recommendation.¹¹

Dry powdered mannitol (Aridol) was supplied in kit form (Pharmaxis Ltd., Frenchs Forest, NSW, Australia), which contained 1 empty capsule (0 mg), capsules containing 5, 10, and 20 mg, and 15 capsules containing 40 mg (cumulative dose of 635 mg). The challenge began with the empty capsule, followed by inhalation of 5, 10, 20, 40, 80, 160, 160, and 160 mg dry powdered mannitol. Forced expiratory volume in 1-second (FEV1) was measured 60 seconds after every inhalation. This procedure was repeated for each dose step until a 15% fall in FEV1 was achieved or the cumulative dose reached 635 mg. A 15% decrease in FEV1 was regarded as a positive response indicating BHR.¹²

2.4 | Dust samples and endotoxin analysis

Samples of floor dust were collected in workplaces to evaluate endotoxin levels. For details, refer to Freitas et al.¹³ Briefly, dust was collected with the aid of a vacuum cleaner equipped with a filter in the tip. Measurement of endotoxin concentration was performed by limulus amebocyte lysate assay.

2.5 | Variables

2.5.1 | Groups

Three groups were formed in accordance with the allergic sensitization. Non-sensitized group: composed by individuals with negative SPT. Common sensitization group: composed by subjects sensitized to common allergens. Occupational sensitization group: composed by subjects sensitized to occupational allergens. Individuals who were sensitized to these two types of allergens (common and occupational) were allocated to the latter.

2.5.2 | Confirmed asthma

An individual was considered an asthmatic subject if he/she had BHR and had experienced symptoms of wheezing, tightness of the chest during the night or dyspnoea during the day or at night in the previous 12 months.

2.5.3 | Wheezing

Current wheezing was defined by a positive answer to the question: *Have you had wheezing or whistling in your chest any time in the last 12 months?*

2.5.4 | Rhinitis

An individual was considered to have rhinitis if he/she answered yes for any of the two following questions: (i)—*Do you have rhinitis (nose allergy)?* (ii)—*Have you had a problem with a runny or blocked nose when you did not have a cold or the flu in the last 12 months?*

2.5.5 | Daily work hours

This variable was defined by the question: *What are your daily work hours?* Results were categorized into two categories: ≥ 8 hours and < 8 hours.

2.5.6 | Exposure years

This variable was the duration of exposure calculated from the date of beginning activities at the job. Results were categorized in the following way: Category 1: up to 1.0 year of exposure; Category 2: between 1.1 and 3.0 years of exposure; Category 3: between 3.1 and 5.0 years of exposure; Category 4: 5.1 or more years of exposure.

2.5.7 | Pet ownership

This variable was defined by the question: *In the last 12 months, have you had pets at home?*

2.5.8 | Smoking

This variable was defined by the question: *Have you ever smoked for more than 1 year?*

2.5.9 | Skin symptoms

This variable was defined by the question: *Have you had redness and irritation of the skin that was coming and going in the last 12 months?*

2.5.10 | Nocturnal dyspnoea

This variable was defined by the question: *Have you been woken by an attack of shortness of breath during the night in the last 12 months?*

2.5.11 | Endotoxin concentration

Results were categorized in the following way: high endotoxin concentrations included values above the median (20.4 EU/mg) and low endotoxin concentrations included values lower or equal to 20.4 EU/mg.

2.6 | Statistical analysis

Univariate analysis (chi-square test) was performed to compare prevalence between groups (non-sensitized, common sensitization, and occupational sensitization). ANOVA was used to compare age among the three groups. Prevalence ratio was estimated using a modified Poisson regression approach, that is, Poisson regression with a robust error variance.¹⁴ These analyses were performed to test associations between occupational sensitization and outcomes. All models were adjusted for sex, smoking, exposure years, age, daily work hours, and pet ownership. Wheezing model was also adjusted for the endotoxin concentration. Analyses were performed using SAS 9.0 software (SAS Institute Inc., Cary, North, USA).

3 | RESULTS

A total of 455 volunteers exposed to laboratory animals were selected. Two subjects were excluded because they did not perform the SPT, thus data from 453 individuals were analysed. The non-sensitized group comprised 237 volunteers, the common sensitization group comprised 142 volunteers, and the occupational sensitization group comprised 74 volunteers. Table 1 shows characteristics of the subjects. Univariate analysis showed that the occupational sensitization group had higher prevalence of all outcomes compared to the other two groups (Table 2).

TABLE 1 Characteristics of subjects

	Non-sensitized group (n = 237)	Common sensitization group (n = 142)	Occupational sensitization group (n = 74)	P value
Age	33.0 ± 10.6	29.6 ± 8.7	33.0 ± 10.1	<.01*
Sex				
Female	128 (54.0%)	77 (54.2%)	39 (52.7%)	.97
Male	109 (46.0%)	65 (45.8%)	35 (47.3%)	
Smoking	40 (16.8%)	23 (16.1%)	17 (22.9%)	.41
Pet ownership	148 (62.4%)	89 (62.6%)	47 (63.5%)	.98
Daily work hours				
<8 hours	45 (19.0%)	34 (24.1%)	8 (10.8%)	.06
≥8 hours	192 (81.0%)	107 (75.9%)	66 (89.2%)	
Exposure years				
≤1.0	29 (12.3%)	31 (21.8%)	8 (10.8%)	.02**
From 1.1 to 3.0	54 (22.9%)	32 (22.5%)	7 (9.5%)	.03**
From 3.1 to 5.0	49 (20.8%)	16 (11.3%)	12 (16.2%)	.05**
≥5.1	104 (44.0%)	63 (44.4%)	47 (63.5%)	<.01**
Endotoxin concentration				
Low	83 (37.9%)	54 (43.5%)	32 (47.1%)	.32
High	136 (62.1%)	70 (56.5%)	36 (52.9%)	

*ANOVA.

**Chi-square test.

Endotoxin concentration: Low concentration: ≤20.4 EU/mg of dust, High concentration: >20.4 EU/mg of dust.

Missing information for one subject in variable daily working hours in the common sensitization group.

Missing information for one subject in variable exposure years in the non-sensitized group.

Data for endotoxin concentration were available for 411 subjects.

TABLE 2 Prevalence of the outcomes studied

	Non-sensitized group (n = 237)	Common sensitization group (n = 142)	Occupational sensitization group (n = 74)	P value
Confirmed asthma	8 (3.3%)	14 (9.8%)	20 (27.0%)	<.01*
BHR	10 (4.2%)	21 (14.7%)	26 (34.2%)	<.01*
Wheezing	34 (14.3%)	34 (23.9%)	34 (45.9%)	<.01*
Rhinitis	133 (56.1%)	107 (75.3%)	67 (90.5%)	<.01*
Nocturnal dyspnoea	21 (8.8%)	15 (10.5%)	18 (24.3%)	<.01*
Skin symptoms	68 (28.6%)	49 (34.5%)	38 (51.3%)	<.01*

*Chi-square test.

The overlap of confirmed asthma, rhinitis, and skin symptoms was analysed. Occupational sensitization was associated with a higher prevalence of workers with overlap of the 3 outcomes when compared to the other two groups ($P < .01$) (Figure 1).

Multivariate analysis showed that volunteers with occupational sensitization had higher risk of confirmed asthma as compared to individuals with common sensitization (prevalence ratio (PR): 2.65; 95% confidence interval (CI): 1.45-4.85) and non-sensitized individuals. In addition, workers exposed to animals from 3.1 to 5.0 years had increased risk of confirmed asthma compared to

individuals exposed up to 1.0 year (Table 3). Occupational sensitization was associated with higher risk of wheezing in comparison with common sensitization (PR: 1.75; 95% CI: 1.21-2.53) and non-sensitization. High concentration of endotoxin in the workplace was also a risk factor for wheezing (PR: 1.56; 95% CI: 1.09-2.22) (Table 4).

The occupational sensitization group had a higher prevalence of rhinitis than the common sensitization group (PR: 1.25; 95% CI: 1.11-1.40) and the non-sensitized group. Moreover, female sex was a risk factor for rhinitis and increasing age was a protective factor (Table 5). Table 6 presents the risk factors for skin symptoms. Similar to previous outcomes, individuals from the occupational sensitization group had higher risk of skin symptoms than individuals from common sensitization group (PR: 1.36; 95% CI: 1.01-1.85) and non-sensitized group (Table 6). Occupational sensitization was also associated with increased risk of BHR (Table S1) and nocturnal dyspnoea (Table S2) compared to common sensitization and non-sensitization.

We compared severity of skin prick test (SPT) reactions between occupational and common sensitization groups. Among the 11 common allergens tested, the common sensitization group reacted to 2.96 ± 1.29 allergens (mean $\pm$ SD) and the occupational sensitization group reacted to 2.89 ± 2.09 ($P = .505$); in addition, mean weal sizes of positive reactions were not different between groups, respectively, 3.92 ± 0.80 mm and 4.02 ± 0.90 mm ($P = .373$).

FIGURE 1 Overlap of asthma, rhinitis, and skin symptoms among workers of the non-sensitized group, common sensitization group, and occupational sensitization group

TABLE 3 Assessment of risk factors for confirmed asthma

Variables	Categories (n)	Crude model				Adjusted model			
		PR	95% CI	P value		PR	95% CI	P value	
Group	Occupational (n = 73) vs non-sensitized (n = 234)	7.98	3.67	17.35	<.01	7.68	3.52	16.75	<.01
Group	Occupational (n = 73) vs common (n = 140)	2.72	1.46	5.06	<.01	2.65	1.45	4.85	<.01
Smoking	Yes (n = 77) vs no (n = 370)	1.30	0.65	2.61	.45	1.48	0.74	2.96	.27
Sex	Female (n = 240) vs male (n = 207)	1.27	0.70	2.28	.43	1.28	0.72	2.27	.40
Exposure years	From 1.1 to 3.0 (n = 91) vs ≤1.0 (n = 68)	1.10	0.32	3.76	.87	1.46	0.42	5.10	.55
Exposure years	From 3.1 to 5.0 (n = 77) vs ≤1.0 (n = 68)	2.61	0.88	7.71	.08	3.29	1.06	10.14	.04
Exposure years	≥5.1 (n = 210) vs ≤1.0 (n = 68)	1.60	0.57	4.50	.38	2.16	0.65	7.19	.21
Age	Continuous	0.97	0.94	1.00	.09	0.96	0.92	1.01	.12
Daily work hours	≥8 h (n = 359) vs <8 h (n = 87)	0.89	0.44	1.79	.75	0.76	0.35	1.65	.48
Pet ownership	Yes (n = 278) vs no (n = 169)	0.73	0.41	1.31	.29	0.74	0.42	1.32	.31

Bronchial hyperresponsiveness data from six subjects were missing.
PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

4 | DISCUSSION

In the present study, we investigated the association between occupational allergic sensitization and skin symptoms (redness or irritation), chest symptoms (wheezing and nocturnal dyspnoea), rhinitis,

BHR, and confirmed asthma. All subjects were exposed to laboratory animals. If they had a positive SPT to rat, mouse, rabbit, guinea-pig, or hamster, they were considered as having occupational sensitization. Occupational sensitization was associated with increased risk for all evaluated outcomes. These associations were found when the

TABLE 4 Assessment of risk factors for wheezing

Variables	Categories (n)	Crude model			P value	Adjusted model			P value
		PR	95% CI			PR	95% CI		
Group	Occupational (n = 71) vs non-sensitized (n = 225)	3.50	2.33	5.27	<.01	3.69	2.44	5.57	<.01
Group	Occupational (n = 71) vs common (n = 127)	1.73	1.19	2.52	<.01	1.75	1.21	2.53	<.01
Smoking	Yes (n = 74) vs no (n = 349)	0.89	0.55	1.45	.65	0.91	0.59	1.42	.69
Sex	Female (n = 228) vs male (n = 195)	1.30	0.91	1.86	.15	1.21	0.86	1.70	.28
Exposure years	From 1.1 to 3.0 (n = 81) vs ≤1.0 (n = 61)	1.19	0.64	2.20	.58	1.33	0.73	2.43	.35
Exposure years	From 3.1 to 5.0 (n = 73) vs ≤1.0 (n = 61)	1.32	0.71	2.43	.38	1.50	0.82	2.73	.18
Exposure years	≥5.1 (n = 207) vs ≤1.0 (n = 61)	1.02	0.59	1.75	.95	1.12	0.61	2.08	.71
Age	Continuous	0.98	0.97	1.00	.09	0.99	0.97	1.02	.45
Daily work hours	≥8 h (n = 344) vs <8 h (n = 78)	0.85	0.56	1.31	.47	0.94	0.59	1.49	.79
Pet ownership	Yes (n = 266) vs no (n = 157)	1.30	0.89	1.90	.17	1.29	0.89	1.88	.18
Endotoxin concentration	High (n = 288) vs low (n = 115)	1.47	1.00	2.15	.04	1.56	1.09	2.22	.01

Low endotoxin concentration: ≤20.4 EU/mg of dust; High endotoxin concentration: >20.4 EU/mg of dust. Wheezing data from thirty subjects were missing.

PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

TABLE 5 Assessment of risk factors for rhinitis

Variables	Categories (n)	Crude model			P value	Adjusted model			P value
		PR	95% CI			PR	95% CI		
Group	Occupational (n = 73) vs non-sensitized (n = 234)	1.61	1.41	1.83	<.01	1.58	1.38	1.81	<.01
Group	Occupational (n = 73) vs common (n = 141)	1.21	1.08	1.36	<.01	1.25	1.11	1.40	<.01
Smoking	Yes (n = 80) vs no (n = 368)	1.07	0.92	1.25	.38	1.17	1.01	1.35	.04
Sex	Female (n = 242) vs male (n = 206)	1.27	1.11	1.44	<.01	1.23	1.09	1.40	<.01
Exposure years	From 1.1 to 3.0 (n = 92) vs ≤1.0 (n = 68)	0.93	0.77	1.13	.48	0.99	0.82	1.20	.93
Exposure years	From 3.1 to 5.0 (n = 75) vs ≤1.0 (n = 68)	0.88	0.71	1.09	.23	0.94	0.77	1.15	.55
Exposure years	≥5.1 (n = 212) vs ≤1.0 (n = 68)	0.90	0.76	1.07	.24	1.04	0.86	1.26	.69
Age	Continuous	0.99	0.98	0.99	<.01	0.99	0.98	0.99	<.01
Daily work hours	≥8 h (n = 362) vs <8 h (n = 85)	0.95	0.81	1.10	.47	1.03	0.88	1.21	.70
Pet ownership	Yes (n = 282) vs no (n = 166)	1.12	0.98	1.29	.09	1.12	0.98	1.28	.09

Rhinitis data from five subjects were missing.

PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

occupational sensitization group was compared to either one of the other two groups, the non-sensitized group or the common sensitization group that comprised subjects sensitized to common allergens.

In addition, exposure duration between 3 and 5 years was associated with a higher risk of confirmed asthma as compared to exposure for less than 1 year. Regarding number of allergic manifestations, workers with occupational sensitization had greater overlap of skin symptoms, rhinitis, and asthma. Finally, the exposure to a high concentration of endotoxin (>20.4 EU/mg) was associated with increased prevalence of wheezing.

One could argue that differences and worse outcomes related to occupational sensitization were due to sensitization severity differences. The number of positive allergens in every group was compared as well as the reaction wheel sizes. No difference was found.

Therefore, it seems that occupational sensitization leads to more severe clinical outcomes independently of more severe SPT findings.

Renstrom et al¹⁵ performed a follow-up (median of 18 months) study on LAA subjects (defined as specific IgE and/or symptom related with laboratory animal work). Nine subjects were included in the LAA group and had significantly more responsive airways than non-LAA subjects (n = 29). All LAA subjects had lower provocative dose causing 20% FEV1 fall (PD20) values and a steeper slope at follow-up than at baseline. Sensitization to laboratory animals was associated with significant increase in bronchial responsiveness in most exposed workers. The magnitude of the PD20 increase and the final level of bronchial responsiveness were associated with sensitization. However, sensitization to common allergens was not separately considered. Probably, their small sample size would not allow comparisons similar to the comparisons we have performed.

TABLE 6 Assessment of risk factors for skin symptoms

Variables	Categories (n)	Crude model			P value	Adjusted model			P value
		PR	95% CI			PR	95% CI		
Group	Occupational (n = 72) vs non-sensitized (n = 229)	1.77	1.32	2.38	<.01	1.64	1.22	2.20	<.01
Group	Occupational (n = 72) vs common (n = 131)	1.43	1.04	1.96	.03	1.36	1.01	1.85	.04
Smoking	Yes (n = 75) vs no (n = 357)	1.15	0.84	1.56	.39	1.14	0.83	1.56	.42
Sex	Female (n = 232) vs male (n = 200)	1.31	1.01	1.71	.04	1.30	0.99	1.69	.05
Exposure years	From 1.1 to 3.0 (n = 88) vs ≤1.0 (n = 64)	0.89	0.55	1.46	.66	0.94	0.58	1.54	.81
Exposure years	From 3.1 to 5.0 (n = 75) vs ≤1.0 (n = 64)	1.09	0.68	1.76	.72	1.17	0.72	1.90	.53
Exposure years	≥5.1 (n = 204) vs ≤1.0 (n = 64)	1.28	0.86	1.91	.22	1.44	0.92	2.26	.11
Age	Continuous	1.00	0.99	1.01	.81	0.99	0.97	1.00	.17
Daily work hours	≥8 h (n = 348) vs <8 h (n = 83)	1.08	0.77	1.50	.66	1.01	0.70	1.46	.97
Pet ownership	Yes (n = 269) vs no (n = 163)	1.19	0.90	1.55	.22	1.18	0.90	1.55	.23

Skin symptoms data from twenty-one subjects were missing.
PR, prevalence ratio; CI, confidence interval.

Palmberg et al¹⁶ in a follow-up study showed that in subjects who became sensitized to laboratory animals (n = 13), eyes and nose symptoms increased during 12 months of exposure, whereas symptoms did not change over time in the group non-sensitized to laboratory animals (n = 57), indicating a causal relationship between occupational sensitization and the development of clinical symptoms of allergic rhinoconjunctivitis. Although the authors showed that bronchial responsiveness to methacholine increased significantly during the study in previously atopic subjects, they failed to detect an association between sensitization to laboratory animals and BHR.

Among workers with less than 4 years of exposure and sensitized to animals to which they were exposed, there were excess declines in forced vital capacity (−148 mL/year), FEV1 (−83 mL/year), and maximum mid-expiratory flow (−7 mL/s/year) compared to exposed workers with no occupational sensitization.¹⁷ Workers sensitized to mice were nearly 4 times more likely to report chest symptoms when compared to non-sensitized workers¹⁸; furthermore, work-related chest symptoms (defined as those occurring at work and/or improving when away from work) were observed in 42% of workers sensitized to rat and reported by only 3% of non-sensitized workers.¹⁹

Our data showed that workers with occupational sensitization had greater overlap of allergic diseases. When prevalence studies are performed in groups of persons exposed to laboratory animals, some patterns of overlap are found. These patterns result from the sequence of development, from the risk of allergic manifestation, and from the selection of workers that endure working conditions despite their illness.² Previous reports on allergic symptoms overlap showed prevalence of 11.6%–18.3% in laboratory animal workers.^{1,2} Elliot et al²⁰ observed that workers presenting LAA (defined as self-reported symptoms from working with laboratory animals or their cages) had overlap prevalence of 7.4% at baseline. Overlap was the presence of nasal/eye symptoms, skin symptoms, and asthma. In the follow-up analysis, overlap prevalence increased to 23.1%. The authors concluded that in workers who continue to be exposed to animals, allergy symptoms are a major risk to develop asthma.

Interestingly, in our study, workers exposed for more than 5 years showed no increased risk of asthma. This leads us to believe that we may be facing an event called "healthy worker effect", which refers to the bias caused by the phenomenon that sicker or more sensitive individuals may choose workplaces in which exposures are low. They may be excluded from being hired; or once hired, they may seek transfer to less exposed jobs or they may leave work.²¹ Similar scenario was reported by Portengen et al¹⁷ in apprentices who presented more symptoms than "experienced" workers. Moreover, in these "experienced" workers, there was no association between exposure to laboratory animals and lung function decline, which was explained by healthy worker effect.

The recommendation for workers with occupational asthma is the cessation of exposure to the sensitizing agent,^{22,23} whereas the reduction in the exposure seems to be less beneficial than the complete cessation.²⁴ The use of respiratory protective equipment leads to a significant reduction in respiratory symptoms, but fails to promote complete protection to workers.²⁴ In addition, levels of both airborne endotoxin and allergens can be reduced about 50-fold in rooms with filters tops on cages when compared with rooms with open cages.²⁵ Finally, even though reduction in exposure to occupational allergens is an important issue, identifying a safe exposure threshold is difficult, as several authors have failed to find a cut-off value associated with increased risk of sensitization to laboratory animals or any symptoms.^{26–28} For all these features, we believe that the recommendation for the complete cessation of exposure should be taken into consideration for the group of workers with occupational sensitization.

Given the risks presented in this study, alternatives to reduce the incidence of occupational sensitization among atopic workers are very important. Krop et al,²⁹ based on a multivariate algorithm, suggested that pre-employment counselling among atopic candidates with total IgE higher than 100 IU/mL could reduce occupational sensitization by up to 50%.

Some studies have identified asthmatic workers by self-report questionnaires of symptoms.^{30,31} An advantage of the present study

was the identification of BHR by bronchial challenge test with mannitol, an indirect stimulation agent.³² The diagnosis of asthma based on positive BHR and symptoms has been seen as a gold standard definition of asthma.^{33,34} For instance, we found 42 asthmatic subjects. Among those, 13 (30.9%) reported no asthma, although they had BHR and symptoms.

Another methodological issue is the role of endotoxin. Endotoxin is a constituent of the cell wall of gram-negative bacteria³⁵ and has been considered in previous studies.^{13,36} Using data from the same dataset, our group has previously evaluated the exposure to endotoxin in the workplace and observed that exposure to high concentrations in the dust was associated with wheezing in the last 12 months.¹³ Thus, the analysis model for wheezing was adjusted to endotoxin (high and low concentrations).

One limitation of our study is the cross-sectional design instead of the follow-up one. Further, IgE measurement would have provided additional information for better understanding of occupational sensitization and the development of symptoms and diseases. Nevertheless, to the best of our knowledge, our study has the greatest sample among the ones focussing on the same issues, which strengthens our findings.

In conclusion, these data showed that occupational sensitization in workers exposed to laboratory animals is associated with skin symptoms, nocturnal dyspnoea, wheezing, rhinitis, BHR, and confirmed asthma. Although occupational sensitization raises the risk for symptoms and diseases, we speculate whether it should be a criterion to advise workers to leave the job. We believe that ideally workers should undergo SPT with occupational allergens periodically. If there was occupational sensitization, at least the worker should be warned at an early stage of allergic sensitization to laboratory animals and he/she should receive clear information about the risks and undergo medical follow-up to detect the emergence of any symptom and disease related to exposure to laboratory animals. Ideally, workers should prevent allergic disease with workplace air protection.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to PROESTAT (Consultoria Estatística e Pesquisa de Mercado) for statistical analysis.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interests.

ORCID

E. O. Vianna <http://orcid.org/0000-0003-1902-6326>

REFERENCES

- Aoyama K, Ueda A, Manda F, Matsushita T, Ueda T, Yamauchi C. Allergy to laboratory animals: an epidemiological study. *Br J Ind Med*. 1992;49:41-47.
- Hunskar S, Fosse RT. Allergy to laboratory mice and rats: a review of the pathophysiology, epidemiology and clinical aspects. *Lab Anim*. 1990;24:358-374.
- Bush RK, Stave GM. Laboratory animal allergy: an update. *ILAR J*. 2003;44:28-51.
- Agrup G, Belin L, Sjøstedt L, Skerfving S. Allergy to laboratory animal in laboratory technicians and animal keepers. *Br J Ind Med*. 1986;43:192-198.
- Burney P, Malmberg E, Chinn S, Jarvis D, Luczynska C, Lai E. The distribution of total and specific serum IgE in the European Community Respiratory Health Survey. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99:314-322.
- Hollander A, Heederik D, Doekes G. Respiratory allergy to rats: exposure-response relationships in laboratory animal workers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155:562-567.
- Ferraz E, Arruda LK, Bagatin E, et al. Laboratory animals and respiratory allergies: the prevalence of allergies among laboratory animal workers and the need for prophylaxis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013;68:750-759.
- Tarlo SM, Lemiere C. Occupational asthma. *N Engl J Med*. 2014;370:640-649.
- Dreborg S. Skin tests used in type I allergy testing Position paper. Sub-Committee on Skin Tests of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 1989;44:1-59.
- Ribeiro M, Angelini L, Robles-Ribeiro PG, Stelmach R, de Santos U, P, Terra-filho M. Validation of the Brazilian-Portuguese version of the European Community Respiratory Health Survey in asthma patients. *J Asthma*. 2007;44:371-375.
- American Thoracic Society. Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152:1107-1136.
- Brannan JD, Anderson SD, Perry CP, Freed-Martens R, Lassig AR, Charlton B. The safety and efficacy of inhaled dry powder mannitol as a bronchial provocation test for airway hyperresponsiveness: a phase 3 comparison study with hypertonic (4.5%) saline. *Respir Rep*. 2005;6:144.
- Freitas AS, Simoneti CS, Ferraz E, et al. Exposure to high endotoxin concentration increases wheezing prevalence among laboratory animal workers: a cross-sectional study. *BMC Pulm Med*. 2016;16:69.
- Zou G. A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data. *Am J Epidemiol*. 2004;159:702-706.
- Renström A, Malmberg P, Larsson K, Larsson PH, Sundblad BM. Allergic sensitization is associated with increased bronchial responsiveness: a prospective study of allergy to laboratory animals. *Eur Respir J*. 1995;8:1514-1519.
- Palmberg L, Sundblad B, Lindberg A, Kupczyk M, Sahlander K, Larsson K. Long term effect and allergic sensitization in newly employed workers in laboratory animal facilities. *Respir Med*. 2015;109:1164-1173.
- Portengen L, Hollander A, Doekes G, de Meer G, Heederik D. Lung function decline in laboratory animal workers: the role of sensitization and exposure. *Occup Environ Med*. 2003;60:870-875.
- Nieuwenhuijsen MJ, Putcha V, Gordon S, et al. Exposure-response relations among laboratory animal workers exposed to rats. *Occup Environ Med*. 2003;60:104-108.
- Jeal H, Draper A, Jones M, et al. HLA associations with occupational sensitization to rat lipocalin allergens: a model for other animal allergies? *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:795-799.
- Elliott L, Heederik D, Marshall S, Peden D, Loomis D. Progression of self-reported symptoms in laboratory animal allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116:127-132.
- Le Moual N, Kauffmann F, Eisen EA, Kennedy SM. The healthy worker effect in asthma: work may cause asthma, but asthma may also influence work. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:4-10.

22. Muñoz X, Cruz MJ, Bustamante V, Lopez-Campos JL, Barreiro E. Work-related asthma: diagnosis and prognosis of immunological occupational asthma and work-exacerbated asthma. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2014;24:396-405.
23. Kenyon NJ, Morrissey BM, Schivo M, Albertson TE. Occupational Asthma. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012;43:3-13.
24. Vandenplas O, Dressel H, Nowak D, Jamart J. What is the optimal management option for occupational asthma? *Eur Respir Rev*. 2012;21:97-104.
25. Platts-Mills J, Custis N, Kenney A, et al. The effects of cage design on airborne allergens and endotoxin in animal rooms: high-volume measurements with an ion-charging device. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 2005;44:12-16.
26. Simoneti CS, Freitas AS, Barbosa MC, et al. Study of risk factors for atopic sensitization, asthma, and bronchial hyperresponsiveness in animal laboratory workers. *J Occup Health*. 2016;58:7-15.
27. Peng RD, Paigen B, Eggleston PA, et al. Both the variability and level of mouse allergen exposure influence the phenotype of the immune response in workers at a mouse facility. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:390-396.
28. Lieutier-Colas F, Meyer P, Pons F, et al. Prevalence of symptoms, sensitization to rats, and airborne exposure to major rat allergen (Rat n 1) and to endotoxin in rat-exposed workers: a cross-sectional study. *Clin Exp Allergy*. 2002;32:1424-1429.
29. Krop EJ, Heederik DJ, Lutter R, et al. Associations between pre-employment immunologic and airway mucosal factors and the development of occupational allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123:694-700.
30. Moghtaderi M, Farjadian S, Abbaszadeh Hasiri M. Animal allergen sensitization in veterinarians and laboratory animal workers. *Occup Med (Lond)*. 2014;64:516-520.
31. Muzembo BA, Eitoku M, Inaoka Y, et al. Prevalence of Occupational Allergy in Medical Researchers Exposed to Laboratory Animals. *Ind Health*. 2014;52:256-261.
32. Pauwels R, Joos G, Van der Straeten M. Bronchial hyperresponsiveness is not bronchial hyperresponsiveness is not bronchial asthma. *Clin Allergy*. 1988;18:317-321.
33. Caldeira RD, Bettiol H, Barbieri MA, Terra-Filho J, Garcia CA, Vianna EO. Prevalence and risk factors for work related asthma in young adults. *Occup Environ Med*. 2006;63:694-699.
34. Vianna EO, Garcia CA, Bettiol H, Barbieri MA, Rona RJ. Asthma definitions, relative validity and impact on known risk factors in young Brazilians. *Allergy*. 2007;62:1146-1151.
35. Doreswamy V, Peden DB. Modulation of asthma by endotoxin. *Clin Exp Allergy*. 2011;41:9-19.
36. Jagielo PJ, Thorne PS, Watt JL, Frees KL, Quinn TJ, Schwartz DA. Grain dust and endotoxin inhalation challenges produce similar inflammatory responses in normal subjects. *Chest*. 1996;110:263-270.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found online in the supporting information tab for this article.

How to cite this article: Simoneti CS, Ferraz E, de Menezes MB, Bagatin E, Arruda LK, Vianna EO. Allergic sensitization to laboratory animals is more associated with asthma, rhinitis, and skin symptoms than sensitization to common allergens. *Clin Exp Allergy*. 2017;47:1436-1444. <https://doi.org/10.1111/cea.12994>

Anexo 5. Artigo aceito para publicação no periódico *Brazilian Journal of Medical and Research*.

ScholarOne Manuscripts

Brazilian Journal of Medical and Biological Research

Decision Letter (7558.R1)

From: bjjournal@terra.com.br

To: evianna@fmrp.usp.br

CC: christiansimoneti@usp.br, ericaferrazfisio@hotmail.com, menezes.mb@gmail.com, evianna@fmrp.usp.br

Subject: BJMBR - 7558.R1 - Aceito no merito científico

Body: 19-Jul-2018

Prezado Prof. Elcio Vianna,

Temos a satisfacao de informar que seu manuscrito "7558.R1 - Cat ownership is associated with increased asthma prevalence and dog ownership with decreased spirometry values" foi aceito quanto ao merito científico para publicacao no Brazilian Journal of Medical and Biological Research.

O processo de publicacao do trabalho depende do pagamento de "Publication Charge", e para tanto precisamos das informacoes abaixo, o mais rapidamente possivel.

Para emissao do Boleto Bancario e da Nota Fiscal Eletronica, precisamos que V.Sa. informe com urgencia e clareza, via email (bjjournal@terra.com.br):

1. Em nome de quem devera ser emitido o Boleto Bancario e a Nota Fiscal Eletronica. Ambos os documentos serao remetidos conjuntamente a V.Sa., via email. Certifique-se bem antes de fornecer estes dados pois depois de emitida, a Nota Fiscal Eletronica NAO podera ser refeita com outro nome ou instituicao.
2. O CNPJ (Pessoa Juridica) ou o CPF (Pessoa Fisica) pois e exigencia obrigatoria para emissao da Nota Fiscal Eletronica.
3. Usualmente sao fixados 15 dias para o pagamento do boleto. Caso V.Sa. necessite de um prazo maior, informe na hora em que enviar os dados.
4. Para qual endereço deverao ser remetidos os documentos.
5. O Boleto Bancario e a Nota Fiscal Eletronica, com os dados fornecidos, deve ser pago na data de vencimento. Caso isto nao ocorra ja existe uma multa inserida no boleto que devera ser paga por conta do interessado pois NAO SERA POSSIVEL FAZER CANCELAMENTO OU SUBSTITUICAO DE NENHUM DESTES DOCUMENTOS. Esta medida foi adotada por exigencias de orgaos financiadores (Fapesp, CNPq, Capes, Universidades federais, estaduais, etc.).

IMPORTANTE: Informamos que o trabalho sera verificado e preparado pelo Editor de Estilo e o texto corrigido e eventuais questoes serao enviadas a V.Sa. via e-mail. A DATA DE ACEITACAO DEFINITIVA SERA INSERIDA NO TEXTO SOMENTE APOS o pagamento da Publication Charge e APOS a devolucao do texto corrigido pelo Editor de Estilo. Atrasos eventuais serão descontados da data de submissão do trabalho. Neste momento sera providenciada a preparacao da Prova Grafica que sera lida pela Redatora da revista e enviada para aprovacao dos autores.

Estamos a disposicao para esclarecer qualquer questao adicional, atraves do e-mail (bjjournal@terra.com.br) ou telefone (16) 3630-2778, (16) 3315-9120 ou (16) 3315-3173 (Sr. Reinaldo).

Contamos com sua compreensao e colaboracao. POR FAVOR ACUSE O RECEBIMENTO DESTA EMAIL.

Atenciosamente,

Dr. Isabela Bensenor
Editor
Brazilian Journal of Medical and Biological Research

Date Sent: 19-Jul-2018

Cat ownership is associated with increased asthma prevalence and dog ownership with decreased spirometry values

Running title: Home exposure to pets and asthma risk

C.S. Simoneti¹, E. Ferraz², M.B. Menezes¹, T.R. Icuma³ and E.O. Vianna¹

¹Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

²Departamento de Fisioterapia, Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal, Espírito Santo do Pinhal, SP, Brasil

³Departamento de Medicina Social, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

Correspondence: E.O. Vianna: <evianna@fmrp.usp.br>

Abstract

The association between pet ownership and the development of allergic and respiratory diseases has been the aim of several studies, however, the effects of exposure in adults remain uncertain. The aims of the present study were to investigate the prevalence of asthma and lung function status among dog and cat owners. This cross-sectional study was performed at two universities with students and workers who were allocated into 3 groups according to pet ownership in the previous year: cat owners, dog owners, and no pets (control group). Subjects underwent spirometry, bronchial challenge test with mannitol, skin prick tests, and questionnaires about animal exposures and respiratory symptoms. Control group comprised 125 subjects; cat owner group, 51 subjects; and dog owner group, 140 subjects. Cat owners had increased asthma prevalence (defined by symptoms and positive bronchial challenge test), but no changes in lung function compared to the control group. The dog owner group had lower spirometry values (forced expiratory volume in one second and lower forced vital capacity), but similar asthma prevalence, compared to the control group. In the cat owner group, excess of asthma may have an immunological basis, since we found an association with atopy. Although we did not have endotoxin data from volunteers' households, we postulated that low values of lung function were associated to exposure to endotoxins present in environments exposed to dogs.

Key words: Respiratory tract diseases; Animals; Bronchial hyperreactivity; Lung function; Pets

Introduction

The effect of exposure to pets on the respiratory system has long been studied and is still controversial. In the 1990's, it was shown that sensitization to cats was a risk factor for asthma (1). In turn, exposure to cat allergen was associated with increased bronchial responsiveness (2). Subsequently, it was demonstrated that in atopic people, total IgE above 100 kU/L and specific IgE against cats above 0.35 kU/L were associated with new-onset

asthma (3). In another study, daytime attacks of breathlessness were associated with cat ownership (4).

However, the same authors found a negative association with having a dog and infections of the airways, thus suggesting a possible protective effect (4). A systematic review involving studies with children and adults concludes that there is not enough evidence to indicate a relationship between keeping a pet and subsequent development of asthma (5). This lack of consensus and the discrepancy of the effects of pets reinforce the need for further studies. Thus, the aim of the present study was to investigate the prevalence of asthma and lung function status among dog and cat owners.

Material and Methods

The present cross-sectional study was conducted among adults working or studying at two Brazilian universities, the University of São Paulo at Ribeirão Preto campus and the State University of Campinas. For the present analysis, we selected individuals who had owned a cat or a dog as a pet in the year prior to the study; individuals who had not owned pets were selected as the control group. Consequently, the present study comprised three groups: cat owner, dog owner, and control groups. Subjects had no work exposure to laboratory animals or other animals.

Subjects answered a questionnaire and underwent a skin prick test (SPT), pulmonary function test, and bronchial challenge test with mannitol. Lung function was measured using a Koko spirometer and software (PDS Instrumentation, Inc., USA). Measurements were performed in the sitting position with the volunteer wearing a nose clip. At least 3 technically satisfactory maneuvers were attempted for each volunteer. If at least 3 technically satisfactory maneuvers were not obtained after 8 attempts, lung function testing was discontinued.

In order to perform the bronchial challenge test, an inhalation device and capsules (Pharmaxis Ltd., Australia) containing dry powdered mannitol were used. The challenge began with an empty capsule (used for training), followed by inhalation of 5, 10, 20, 40, 80, 160, 160, and 160 mg of dry powdered mannitol. Forced expiratory volume in one second (FEV₁) was measured 60 s after every inhalation. This procedure was repeated for each dose until inhalation of 635 mg of mannitol or 15% fall in FEV₁. The bronchial challenge test was

considered positive when a 15% decrease in FEV₁ was observed, indicating bronchial hyperresponsiveness (BHR). An individual was considered to be an asthmatic subject if he or she had BHR and had experienced symptoms of wheezing, chest tightness during the night, or dyspnea during the day or at night in the previous 12 months.

Subjects underwent SPT with 11 allergens. A wheal diameter of at least 3 mm was considered positive. The volunteers also responded to a questionnaire adapted from the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS), translated and tested in Brazil. Further information on all the procedures performed can be found elsewhere (6).

Statistical analysis

Univariate analysis (chi-squared test) was performed to compare prevalence of asthma among control, and cat and dog owner groups. ANOVA was used to compare age and spirometric data (continuous variables) among groups. Relative risk (RR) was estimated using a modified Poisson regression approach, i.e., Poisson regression with a robust error variance. The model was adjusted using the Package *geepack* in the R Software (R Foundation for Statistical Computing, Austria), version 3.2.2 and confidence intervals for the RR were obtained with the Package *doBy* in the R Software (R Foundation for Statistical Computing, Austria). Linear regression was used to make predictions about forced vital capacity (FVC) and FEV₁.

Results

A total of 316 volunteers were included. Of these, 125 had not been pet owners in the previous year (control group), 51 individuals reported having had a cat, and 140 subjects reported having had a dog. Table 1 presents the general characteristics and the outcomes studied. The group of individuals exposed to dogs had lower FEV₁ (reported in percentage of predicted values) and lower forced vital capacity (in percentage of predicted values) than the control group.

Multivariate analysis showed that individuals exposed to cats had an increased risk of confirmed asthma compared to individuals in the control group (RR: 3.24; 95% confidence interval (CI): 1.31 to 7.99) (Table 2). Linear regression showed that dog exposure was associated with lower FVC in percentage of predicted values (adjusted coefficient: -3.61 , 95%CI: -6.62 to -0.60) and lower FEV₁ in percentage of predicted (adjusted coefficient: -3.50 , 95%CI: -6.45 to -0.55) compared to the control group. Cat ownership was not associated with changes in lung function (Table 3).

Discussion

The risks and/or benefits of keeping a pet have been the subject of several studies. This knowledge becomes even more important for regions or countries with relevant prevalence of pet ownership, such as the United Kingdom (7) and Italy (8). Pets (dogs or cats) are found in 9% of households of asthmatics in Spain (9).

Data from the present study showed that cat ownership was associated with increased risk of asthma but not with reduced lung function, while dog ownership was associated with reduced pulmonary function (FEV₁ and FVC), without an increased risk of asthma. Previous studies have shown that exposure to cats is associated with increased risk of asthma among adults (10,11), however, to our knowledge, this is the first study to show concomitantly that dog ownership is associated with changes in lung function in adults. It is noteworthy that although we found a statistically significant reduction of lung function in dog owners, such reduction was not clinically worrisome. Reductions in spirometric values should be taken with caution. Values were still in the normal range and changes were small, approximately, 3.5% of predicted value. This fall is not a reason for concern among the general population; however, the change is important due to its mechanisms, its implications in patients with severe respiratory disease, and its relevance for disease understanding.

We believe that the increased risk of asthma among individuals exposed to cats is associated with immunological mechanisms because, as expected, atopy was a risk factor for asthma. In turn, changes in lung function of individuals exposed to dogs were not associated with atopy. It has been shown that households in which there are dogs have greater levels of airborne endotoxins (12) and exposure to endotoxins may worsen lung function (13,14).

Among sewage treatment plant workers, low levels of endotoxin had a significant impact on the observed across-shift (during 6 h shift) decline in FEV₁ (13). In another study, workers of a factory that produced bioproteins derived from a bacterial species (*Methylococcus capsulatum*), exposed to low concentrations of endotoxin, presented lower FVC during the period of occupational exposure, compared to the period without occupational exposure. In addition, the authors detected increased leukocyte count during the exposure period (14). These findings reveal the association between exposure to endotoxin and inflammatory activity in the workers' lungs.

In urban areas, pets frequently live in apartments with no sufficient ventilation and upholstered furniture and carpets, where the level of exposure to pet allergens is very high (15). In residences not exposed to dogs and cats in the previous 6 months, the geometric mean concentrations of dog and cat allergens were 1.33 µg/g and 1.47 µg/g, respectively. In households exposed to dogs and cats, the geometric mean concentrations were 69.23 µg/g and 199.70 µg/g, respectively (16). Threshold values generally recognized as sufficient to induce sensitization and trigger respiratory symptoms are, respectively, 1 µg and 8–10 µg of allergen/g of dust (17). Thus, concentrations of dog and cat allergens in households not exposed to such animals would be insufficient to induce symptoms. In addition, exposure to animals is associated with the presence of other agents, such as the endotoxins, previously mentioned (12). In a recent study to evaluate home fungal and bacterial microbiomes, bacterial evenness and diversity, but not richness, were significantly increased by the presence of a dog, but not by the presence of a cat. Homes with dogs contained four times more putative bacterial species compared to homes without a dog (18).

Our data demonstrated that exposure to cats was associated with increased risk of asthma, while exposure to dogs is associated with reduced lung function. We speculate that the outcomes have different pathways for their development. Asthma would have an immunological basis (marked by atopy as a risk factor), and there may be a latency period between the onset of cat exposure and the development of asthma. On the other hand, reduction of pulmonary function can be associated with endotoxin exposure, which causes inflammation and may rapidly lead to changes in lung function.

References

1. Litonjua AA, Sparrow D, Weiss ST, O'Connor GT, Long AA, Ohman JJJr. Sensitization to cat allergen is associated with asthma in older men and predicts new-onset airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 23–27, doi: 10.1164/ajrccm.156.1.9608072.
2. Chinn S, Heinrich J, Antó JM, Janson C, Norbäck D, Olivieri M, et al. Bronchial responsiveness in atopic adults increases with exposure to cat allergen. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 20–26, doi: 10.1164/rccm.200612-1840OC.
3. Antó JM, Sunyer J, Basagaña X, Garcia-Esteban R, Cerveri I, De Marco R, et al. Risk factors of new-onset asthma in adults: a population-based international cohort study. *Allergy* 2010; 65: 1021–1030, doi: 10.1111/j.1398-9995.2009.02301.x.
4. Takaoka M, Suzuki K, Norbäck D. Current asthma, respiratory symptoms and airway infections among students in relation to the school and home environment in Japan. *J Asthma* 2017; 54: 652–661, doi: 10.1080/02770903.2016.1255957.
5. Chen CM, Tischer C, Schnappinger M, Heinrich J. The role of cats and dogs in asthma and allergy – a systematic review. *Int J Hyg Environ Health* 2010; 213: 1–31, doi: 10.1016/j.ijheh.2009.12.003.
6. Ferraz E, Arruda LK, Bagatin E, Martinez EZ, Cetlin AA, Simoneti CS, et al. Laboratory animals and respiratory allergies: The prevalence of allergies among laboratory animal workers and the need for prophylaxis. *Clinics (Sao Paulo)* 2013; 68: 750–759, doi: 10.6061/clinics/2013(06)05.
7. Murray JK, Gruffydd-Jones TJ, Roberts MA, Browne WJ. Assessing changes in the UK pet cat and dog populations: numbers and household ownership. *Vet Rec* 2015; 177: 259, doi: 10.1136/vr.103223.
8. Capello K, Bortolotti L, Lanari M, Baioni E, Mutinelli F, Vascellari M. Estimate of the size and demographic structure of the owned dog and cat population living in Veneto region (north-eastern Italy). *Prev Vet Med* 2015; 118: 142–147, doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.10.017.
9. Fernandez R, Ariza M, Iscar M, Martinez C, Rubinos G, Gagatsek S, et al. Impact of environmental air pollutants on disease control in asthmatic patients. *Lung* 2015; 193: 195–198, doi: 10.1007/s00408-015-9695-9.

10. Linneberg A, Nielsen NH, Madsen F, Frølund L, Dirksen A, Jørgensen T. Pets in the home and the development of pet allergy in adulthood. The Copenhagen Allergy Study. *Allergy* 2003; 58: 21–26.
11. Noertjojo K, Dimich-Ward H, Obata H, Manfreda J, Chan-Yeung M. Exposure and sensitization to cat dander: asthma and asthma-like symptoms among adults. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 60–65.
12. Park JH, Spiegelman DL, Gold DR, Burge HA, Milton DK. Predictors of airborne endotoxin in the home. *Environ Health Perspect* 2001; 109: 859–864.
13. Cyprowski M, Sobala W, Buczyńska A, Szadkowska-Stańczyk I. Endotoxin exposure and changes in short-term pulmonary function among sewage workers. *Int J Occup Med Environ Health* 2015; 28: 803–811, doi: 10.13075/ijom.eh.1896.00460.
14. Skogstad M, Sikkeland LIB, Øvstebø R, Haug KBF, Heldal KK, Skare Ø, et al. Long-term occupational outcomes of endotoxin exposure and the effect of exposure cessation. *Occup Environ Med* 2012; 69: 107–112, doi: 10.1136/oem.2010.062414.
15. Liccardi G, D'Amato G, Russo M, Canonica GW, D'Amato L, De Martino M, et al. Focus on cat allergen (Fel d 1): immunological and aerodynamic characteristics, modality of airway sensitization and avoidance strategies. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132: 1–12, doi: 10.1159/000073259.
16. Arbes SJJr, Cohn RD, Yin M, Muilenberg ML, Friedman W, Zeldin DC. Dog allergen (Can f 1) and cat allergen (Fel d 1) in US homes: results from the national survey of lead and allergens in housing. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 114: 111–117, doi: 10.1016/j.jaci.2004.04.036.
17. Chapman MD, Wood RA. The role and remediation of animal allergens in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107(3 Suppl): S414–S421.
18. Kettleson EM, Adhikari A, Vesper S, Coombs K, Indugula R, Reponen T. Key determinants of the fungal and bacterial microbiomes in homes. *Environ Res* 2015; 138: 130–135, doi: 10.1016/j.envres.2015.02.003.

Table 1. Characteristics and outcomes of the study sample.

	Control group (n=125)	Cat owner group (n=51)	Dog owner group (n=140)	P value
Age	32.5 ± 9.8	32.8 ± 11.4	32.0 ± 10.3	0.844
Sex				
Female	83 (66.4%)	34 (66.7%)	97 (69.3%)	0.868
Male	42 (33.6%)	17 (33.3%)	43 (30.7%)	0.868
Smoking	13 (10.4%)	10 (19.6%)	25 (16.7%)	0.151
SPT positive	50 (40.0%)	23 (45.1%)	71 (50.7%)	0.216
Confirmed asthma	6 (4.8%)	8 (15.7%)	15 (10.7%)	0.053
FEV ₁ (%)	99.4 ± 13.1	99.6 ± 13.4	96.0 ± 10.1	0.035*
FVC (%)	100.4 ± 13.2	101.5 ± 13.5	97.2 ± 10.8	0.038*

Data for age, FEV₁, and FVC are reported as means±SD. SPT: skin prick test; FEV₁: forced expiratory volume in 1 s (% of predicted value); FVC: forced vital capacity (% of predicted value). Statistical analysis was done with chi-squared test. Pairwise comparisons are shown in Table 3.

Table 2. Assessment of risk factors for confirmed asthma.

Risk factors	Crude model				Adjusted model			
	RR	95%CI	P value		RR	95%CI	P value	
Group (cat vs control)	3.28	1.20	8.97	0.02	3.24	1.31	7.99	0.01
Group (dog vs control)	2.21	0.89	5.52	0.08	1.74	0.73	4.16	0.21
Age (continuous)	0.94	0.89	0.99	0.01	0.96	0.91	1.01	0.09
Sex (female vs male)	0.66	0.29	1.48	0.31	0.54	0.25	1.15	0.10
SPT (positive vs negative)	15.75	3.81	65.09	<0.001	14.12	3.58	55.69	<0.001
Smoking (yes vs no)	0.42	0.10	1.70	0.22	0.58	0.15	2.26	0.43

RR: relative risk; CI: confidence interval; SPT: skin prick test.

Table 3. Assessment of risk factors for reduction in FVC and FEV₁.

Risk factors	FVC				FEV ₁			
	Adjusted coefficient	95%CI		P value	Adjusted coefficient	95%CI		P value
Group (cat vs control)	0.28	−3.77	4.34	0.89	−0.15	−4.13	3.82	0.94
Group (dog vs control)	−3.61	−6.62	−0.60	0.01	−3.50	−6.45	−0.55	0.02
Age (continuous)	0.09	−0.05	0.24	0.20	0.02	−0.12	0.17	0.73
Sex (female vs male)	−1.65	−4.67	1.37	0.28	−1.45	−4.41	1.51	0.33
SPT (positive vs negative)	0.44	−2.39	3.26	0.76	−1.85	−4.62	0.92	0.19
Smoking (yes vs no)	4.28	0.14	8.42	0.04	2.27	−1.78	6.33	0.27

FVC: forced vital capacity (% of predicted value); FEV₁: forced expiratory volume in 1 s (% of predicted value); CI: confidence interval; SPT: skin prick test.

Anexo 6. Artigo submetido para avaliação no periódico Revista Brasileira de Saúde Ocupacional.

11/09/2018

Email – christiansimoneti@hotmail.com

Revista Brasileira de Saúde Ocupacional - Manuscript ID RBSO-2018-0367

Revista Brasileira de Saúde Ocupacional <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

ter 11/09/2018 15:41

Para: christiansimoneti@hotmail.com <christiansimoneti@hotmail.com>;

Cc: christiansimoneti@hotmail.com <christiansimoneti@hotmail.com>; tiago_bittar@hotmail.com <tiago_bittar@hotmail.com>;
evianna@fmrp.usp.br <evianna@fmrp.usp.br>;

11-Sep-2018

Prezado(a) Mr. Simoneti:

Seu manuscrito intitulado "Continued exposure to laboratory animals is associated with increasing asthma prevalence" foi submetido com sucesso e está em processo de avaliação para publicação pela Revista Brasileira de Saúde Ocupacional.

O ID do seu manuscrito é RBSO-2018-0367.

Por favor, mencione este ID em todas as correspondências futuras ou quando entrar em contato com a Secretaria Executiva a respeito deste manuscrito. Caso haja alguma mudança de endereço ou de email, por favor logue no ScholarOne em <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbso-scielo> e edite as suas informações de contato apropriadamente.

Você também pode ver o status do seu manuscrito a qualquer momento através do seu Author Center, após logar no <https://mc04.manuscriptcentral.com/rbso-scielo>.

Agradecemos a submissão do seu manuscrito para a Revista Brasileira de Saúde Ocupacional.

Atenciosamente,
Secretaria Executiva da Revista Brasileira de Saúde Ocupacional

Continued exposure to laboratory animals is associated with increasing asthma prevalence

Exposição continua a animais de laboratório está associada com aumento na frequência de asma

Christian Silva Simoneti¹, Tiago Spessotto Bittar Nocera¹, Elcio Oliveira Vianna^{1*}

1 - Department of Medicine; Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo; Ribeirão Preto, Brazil.

*Corresponding author: Dr. Elcio Oliveira Vianna

Department of Medicine, Medical School of Ribeirão Preto, University of São Paulo.

Av. Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto, SP, 14048-900, Brazil.

Phone: 55-16-3602 2706; Fax: 55-16-3602 0229; E-mail: evianna@fmrp.usp.br

Abstract

Objective: To describe follow-up evaluation of sensitized workers who continued to be exposed to laboratory animals.

Methods: After a mean follow-up period of approximately 7 years, we made contact attempts by phone, email, Facebook and by search in the workplace with all individuals with occupational sensitization detected in a previous study. A questionnaire was employed to assess present occupational status, relationship between allergy and decision on quitting or not that job or exposure. The following symptoms or diagnoses were evaluated: asthma, wheezing, rhinitis, skin symptoms, and nocturnal dyspnea.

Results: Of the 74 individuals with occupational sensitization, 45 volunteers completed the questionnaire. By comparing data from the first evaluation with data from the current evaluation, an increase in asthma frequency was observed, from 27.0% to 45.9% (OR: 2.30; CI 95%: 1.01-5.24). There was no change in the frequency of wheezing, rhinitis, skin symptoms and nocturnal dyspnoea.

Conclusion: Data from the present study demonstrate increased frequency of asthma among workers with occupational sensitization. We believe that this group of workers should undergo SPT with occupational allergens. In case of occupational sensitization, individuals should be warned about the risk of continued exposure.

Keywords: asthma; diagnosis; occupational allergies; work.

Resumo

Objetivo: Avaliar trabalhadores sensibilizados que continuaram expostos aos animais de laboratório aos quais eram sensibilizados.

Métodos: Após um período de seguimento médio de 7 anos, tentou-se contato por telefone, e-mail, Facebook e busca no ambiente de trabalho de indivíduos com sensibilização ocupacional previamente detectada. Um questionário foi empregado para avaliar características atuais do trabalho, relação entre sintomas alérgicos e a decisão de abandonar ou não a exposição ocupacional. Foram avaliados sintomas ou diagnósticos de asma, sibilo, rinite, sintomas cutâneos e dispneia noturna.

Resultados: Dos 74 indivíduos com sensibilização ocupacional, 45 indivíduos completaram o questionário. Comparando os dados da primeira avaliação com os dados da avaliação atual, observou-se aumento na frequência de asma, de 27,0% para 45,9% (OR: 2.30; IC 95%: 1.01-5.24). Não houve alteração na frequência de sibilos, rinite, sintomas cutâneos e dispneia noturna.

Conclusão: Os dados do presente estudo demonstram aumento na frequência de asma. Acreditamos que o grupo desse grupo de trabalhadores deveriam ser submetidos periodicamente a teste cutâneo de hipersensibilidade imediata com os alérgenos ocupacionais. Em caso de sensibilização ocupacional, o indivíduo receberia informações claras sobre os riscos relacionados à exposição contínua ao animal ao qual é sensibilizado.

Palavras-chave: asma; diagnostico; alergia ocupacional; trabalho.

Introduction

Workers exposed to laboratory animals frequently develop allergic symptoms related to exposure to animals, a condition known as laboratory animal allergy (LAA)¹, characterized by symptoms of urticaria, conjunctivitis, rhinitis and asthma². Due to the different criteria for defining LAA, with definitions based on reports of symptoms or laboratory tests³, the prevalence of LAA may range from 11 to 44%⁴. What makes LAA an important occupational health problem⁵.

LAA is caused by an immunological hypersensitivity reaction to high-molecular-weight antigens that are present in laboratory animals' urine, dander and saliva⁶. The major antigens eliminated by rats capable of generating allergic reactions are Rat n 1A and Rat n 1B, which are variant antigens of alpha 2 globulins, while the major mouse antigen is a pre-albumin called Mus m1⁷. Both Rat n1 and Mus m1 are produced in the liver, under control of androgenic hormones. Rat n1 is released in larger amounts by adult male rats, while adult male mouse release up to 4 times more Mus m1 allergen than female mouse⁸.

In the workplace, contact with antigens eliminated by the animals occurs during routine activities such as contact with body fluids during cleaning cages, food, animal transportation, collecting tissues, surgery, inoculation and sacrifices. In addition, these antigens can be found suspended in air or deposited on any surface⁹. All these characteristics make the bioterrories and research laboratories become work environments conducive to the development of allergic reactions to laboratory animals^{10, 11}.

Several risk factors for laboratory animal allergy development have already been identified. It has recently been demonstrated that allergic sensitization to laboratory animals is associated with an increased risk of skin symptoms, nocturnal dyspnea, rhinitis, wheezing, bronchial hyperresponsiveness and asthma, when compared to common allergic sensitization¹². Occupational sensitization as an important risk factor for laboratory animal allergy draws much attention, since the prevalence of sensitization to laboratory animals ranges from 16 to 25%^{13,14}, condition that puts much of this group of workers at risk.

As many of the individuals who become sensitized to laboratory animals continue to be exposed to animals because of the need to maintain employment or to complete their research activities related to post graduate degree, a longitudinal assessment of the effects of

continuous exposure to the sensitizing agent on the frequency of symptoms reported by workers is necessary.

Methods

This was a prospective study conducted at two Brazilian universities, the University of São Paulo at Ribeirão Preto (USP-RP) and the State University of Campinas (UNICAMP). Study subjects were students and workers exposed to laboratory animals. In the first evaluation of this prospective study, subjects were allocated into groups according to the outcome of the skin prick test. At the time, 74 volunteers sensitized to at least one of the following animals were identified: rat, mouse, rabbit, hamster or guinea pig, thus forming the group of individuals with occupational sensitization¹².

For the present analysis (second evaluation), all 74 individuals with occupational sensitization were contacted by phone, email, Facebook and by search in the workplace. A questionnaire was employed to assess evaluation, present occupational status, relationship between allergy and decisions on quitting or not that job or exposure.

Based on the questionnaire, the following variables were analyzed:

Asthma. Based on positive response to both questions: 1 - Do you have or have you ever had asthma? 2 - Asthma was diagnosed by a doctor?

Wheezing. Was defined by a positive answer to the question: Have you had wheezing or whistling in your chest any time in the last 12 months?

Rhinitis. An individual was considered to have rhinitis if he/she answered yes for any of the two following questions: 1 - Do you have rhinitis (nose allergy)? 2 - Have you had a problem with a runny or blocked nose when you did not have a cold or the flu in the last 12 months?

Skin symptoms. This variable was defined by the question: Have you had redness and irritation of the skin that was coming and going in the last 12 months?

Nocturnal dyspnoea. This variable was defined by the question: Have you been woken by an attack of shortness of breath during the night in the last 12 months?

Statistical analysis

Univariate analysis (chi-square test) was performed to compare frequency of outcomes between first and second evaluation.

Results

Of the 74 individuals with occupational sensitization, 45 volunteers completed the questionnaire, 37 of which continued to be exposed to laboratory animals and 8 did not continue. The mean follow-up period of the subjects was approximately 7 years (from 5 to 7.5 years). When comparing the data from the first evaluation with data from the current evaluation, an increase in asthma frequency was observed, from 27.0% to 45.9% (OR: 2.30; CI 95%: 1.01-5.24), with 5 new cases of asthma. There was no change in the frequency of wheezing, rhinitis, skin symptoms and nocturnal dyspnea (Table 1). Among the 37 subjects who continued to be exposed, 3 reported desire to give up exposure to laboratory animals because of clinical information given in the first analysis.

Discussion

The prevalence of asthma presented in this study is very high. Among adult Brazilians, the prevalence of medical diagnosis of asthma is 7.0%¹⁵. In the study published in 2017, where we analyzed the prevalence of outcomes among individuals with common sensitization and occupational sensitization, we showed that prevalence of asthma among individuals with common sensitization was 9.8%, the prevalence of asthma in the occupational sensitization group was 27.0%¹². Now, in the current evaluation of the individuals with occupational sensitization, the prevalence of medical diagnosis of asthma was 45.9%, that is, more than 6 times the general prevalence of asthma among adults.

Previous studies have already presented the deleterious effects of continued exposure to the occupational allergen to which the individual is sensitized. Palmberg et al¹⁶ observed that in the 12th month of exposure, individuals who became sensitized to laboratory animals reported more nasal and ophthalmologic symptoms when compared to non-sensitized individuals. In addition, in the 24th month of exposure, individuals with animal sensitization

presented lower FEV₁ when compared to non-sensitized individuals. Occupational sensitization is also associated with reduced lung function. Comparing sensitized workers and non-sensitized workers, sensitized workers demonstrated a reduction of FEV₁ of 83 ml/year and a reduction of FVC of 148 ml/year and reduction of FEF_{25-75%} of 7 ml/s/year¹⁷.

With respect to bronchial reactivity, Renstron et al¹⁸ showed that at the end of the follow-up (median of 18 months), there was a difference in reactivity among workers with occupational sensitization, where the mean methacholine dose for a 20% drop in FEV₁ was 0.30, whereas in the non-sensitized group, the mean methacholine dose required for a 20% drop in FEV₁ was 1.97.

The data presented in the previous studies corroborate the findings of the present study, where prolonged exposure to the sensitizing agent poses a risk to workers' health, ie, development of symptoms, changes in lung function and increased bronchial reactivity. The present adds data on the increase in the number of asthmatics, even with limited number of individuals who participated in the second time-point. Interestingly, we only see an increase in cases of asthma, which is the most severe outcome due to exposure to laboratory animals. This fact leads us to believe that asthma is a final route of allergic reactions caused by exposure to laboratory animals. Time of follow-up seems sufficient, since sensitization, which is associated with all mentioned outcomes, is more frequent among individuals exposed to more than 2.8 years¹⁹.

One issue that draws attention in the present analysis is the apparent lack of importance given by volunteers to occupational sensitization. Of the 8 volunteers who abandoned the exposure to laboratory animals, none of them had this attitude due to occupational sensitization, and among the 37 volunteers who continued to expose themselves, only 3 thought to leave the exposure due to occupational sensitization. Perhaps, this characteristic is due to the lack of knowledge that these individuals have about allergies to laboratory animals. As evidence of this possibility, in the first evaluation of the study, before clinical diagnoses, only 25.1% of workers exposed to laboratory animals reported receiving verbal guidance or having read some text about the risk of animal exposure inducing allergic reactions¹³.

Providing information and training for safe practices regarding exposure to laboratory animals is of great importance, Larese et al¹⁴ demonstrated that after a prevention program,

where some of its elements consisted of education and training, establishment of good working practices to reduce exposure to laboratory animals, use of respiratory protection equipment, SPT with occupational allergens and medical evaluation, there was a reduction in the prevalence of sensitization to laboratory animals, from 25.6% between 2001 and 2004 to 8.2% between 2013 and 2016.

In conclusion, data from the present study demonstrate the risk of continued exposure to laboratory animals. We believe that this group of workers should be periodically submitted to SPT with occupational allergens. In case of occupational sensitization, individuals would be warned about the risk of remaining exposed to animals. In addition, we believe that prevention programs would be very useful, helping to clarify the risks of exposure to laboratory animals and reducing the frequency of sensitization to laboratory animals.

Conflict of interest:

The authors declare that they have no conflict of interests.

Funding information:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

References

1. Wolfle TL, Bush RK. The science and pervasiveness of laboratory animal allergy. *ILAR J.* 2001;42(1):1-3.
2. Hunskaar S, Fosse RT. Allergy to laboratory mice and rats: a review of the pathophysiology, epidemiology and clinical aspects. *Lab Anim.* 1990;24(4):358-374.
3. Acton D, McCauley L. Laboratory animal allergy: an occupational hazard. *AAOHN J.* 2007;55(6):241-244.
4. Bush RK, Stave GM. Laboratory animal allergy: an update. *ILAR J.* 2003;44(1):28-51.
5. Jeal H, Jones M. Allergy to rodents: an update. *Clin Exp Allergy.* 2010;40(11):1593-1601.
6. Corradi M, Ferdenzi E, Mutti A. The characteristics, treatment and prevention of laboratory animal allergy. *Lab Anim.* 2012;42(1):26-33.
7. Wood RA. Laboratory Animal Allergens, *ILAR J.* 2001;42(1):12-16.
8. Jones M. Laboratory Animal Allergy in the Modern Era. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015;15(12):73.
9. Harries MG, Cromwell O. Occupational asthma caused by allergy to pigs' urine. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1982;284(6319):867.
10. Bush RK, Wood RA, Eggleston PA. Laboratory animal allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102(1):99-112.
11. Taylor AN, Longbottom JL, Pepys J. Respiratory allergy to urine proteins of rats and mice. *Lancet.* 1977;2(8043):847-849.
12. Simoneti CS, Ferraz E, de Menezes MB, Bagatin E, Arruda LK, Vianna EO. Allergic sensitization to laboratory animals is more associated with asthma, rhinitis, and skin

- symptoms than sensitization to common allergens. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(11):1436-1444.
13. Ferraz E, Arruda LKP, Bagatin E, Martinez EZ, Cetlin AA, Simoneti CS. et al. Laboratory animals and respiratory allergies: The prevalence of allergies among laboratory animal workers and the need for prophylaxis. *Clinics (São Paulo)*. 2013;68(6):750-759.
 14. Larese FF, Drusian A, Mauro M, Negro C. Laboratory animal allergy reduction from 2001 to 2016: An intervention study. *Respir Med*. 2018;136:71-76.
 15. Vianna EO, García CA, Bettiol H, Barbieri MA, Rona RJ. Asthma definitions, relative validity and impact on known risk factors in young Brazilians. *Allergy*. 2007;62(10):1146-1151.
 16. Palmberg L, Sundblad B, Lindberg A, Kupczyk M, Sahlander K, Larsson K. Long term effect and allergic sensitization in newly employed workers in laboratory animal facilities. *Respir Med*. 2015;109(9):1164-1173.
 17. Portengen L, Hollander A, Doekes G, de Meer G, Heederik D. Lung function decline in laboratory animal workers: the role of sensitization and exposure. *Occup Environ Med*. 2003;60(11):870-875.
 18. Renstrom A, Malmberg P, Larsson K, Larsson PH, Sundblad BM. Allergic sensitization is associated with increased bronchial responsiveness: a prospective study of allergy to laboratory animals. *Eur Respir J*. 1995;8(9):1514-1519.
 19. Simoneti CS, Freitas AS, Barbosa MC, Ferraz E, de Menezes MB, Bagatin E, et al. Study of risk factors for atopic sensitization, asthma, and bronchial hyperresponsiveness in animal laboratory workers. *J Occup Health*. 2016;58(1):7-15.

Table 1: Comparison of the frequency of outcomes

Outcomes	2 nd versus 1 st evaluation	OR	95% CI		p
Asthma	45.9% vs 27.0%	2.30	1.01	5.24	0.046
Wheezing	40.5% vs 45.9%	0.80	0.36	1.78	0.589
Rhinitis	86.5% vs 90.5%	0.67	0.20	2.27	0.517
Nocturnal dyspnoea	37.8% vs 24.3%	1.89	0.81	4.43	0.138
Skin symptoms	51.3% vs 51.3%	1.00	0.45	2.24	0.994

OR: odds ratio; CI: confidence interval.