RODOLPHO JOSÉ DE CARVALHO PINTO

**Poeira de soja inalada e seu impacto epidemiológico no
desencadeamento de alergia respiratória**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Ciências**

Área de concentração: Alergia e Imunopatologia

Orientador: Prof. Dr. Julio Croce

São Paulo

2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pinto, Rodolpho José de Carvalho

**Poeira de soja inalada e seu impacto epidemiológico no desencadeamento de
alergia respiratória** / Rodolpho José de Carvalho Pinto. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Alergia e Imunopatologia.

Orientador: Júlio Croce.

Descritores: 1.EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO 2.SOJA 3.POEIRA
4.HIPERSENSIBILIDADE 5.ASMA 6.RINITE

USP/FM/SBD-126/06

DEDICATÓRIA

Às vítimas de doenças ocupacionais e para-ocupacionais que se ressentem da ausência de um pensamento voltado para o bem estar da coletividade em função do lucro e do desenvolvimento irracional.

A Deus que nos concedeu o dom de pensar naqueles que necessitam, superar as vaidades e enfrentar o caráter laico da ciência.

AGRADECIMENTOS

À minha família, alicerce e propulsora de todas as minhas conquistas.

Aos meus amados pais Carlos José e Haydeé pela corajosa dedicação aos seus filhos.

Ao meu estimado orientador Prof. Dr. Julio Croce e sua esposa D^a Dieta pela incansável dedicação e desprendimento em ajudar a todos que deles necessitam.

Aos professores da disciplina de Imunologia Clínica e Alergia da FMUSP que nos apoiaram a fim de que concluíssemos este projeto.

Ao Prof. Jorge Kalil cujo rigor científico e competência têm alçado o Serviço de Alergia e Imunologia a um patamar inigualável.

Aos professores Edécio Cunha Neto e Clóvis Eduardo Santos Galvão, membros da banca de qualificação, que com muita propriedade lapidaram o trabalho em sua fase final.

À Profª Maria Regina Cardoso responsável pelos cálculos de significância estatística constantes desta tese.

A todos os colegas que opinaram durante os encontros, seminários, congressos e reuniões contribuindo sobremaneira para a complementação desse projeto.

À diretoria e aos funcionários da Cargill S.A pela solicitude em nos atender e pela cordial acolhida em suas dependências.

Aos digníssimos Prefeitos e Secretários de Saúde das cidades de Mairinque, Iporá, Montividiu e Bom Jesus por nos franquearem o acesso aos serviços de saúde desses municípios.

À disciplina de Micologia da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da UNESP de Araraquara, em especial à Profª Drª Elaine Toscano Miranda que foi responsável pela pesquisa de fungos nas placas de soja.

À Irene Hyriscina dos Santos que nos acompanhou no trabalho de campo e que por quinze anos esteve em nossa clínica somando esforços para o bom andamento das atividades.

Ao jovem estudante de medicina Thiago Kalil Mussa que contribuiu em nosso trabalho.

Ao colega alergista Daniel Strozzi e sua esposa pelo empenho nas atividades no município de Iporá.

À Profª Cristina Kokron pelas orientações na feitura das dosagens de IgE específica e aos funcionários do laboratório, em especial ao Carlos que realizou efetivamente os testes.

Aos professores Fábio Fernandes Morato Castro e Myrthes Toledo Barros que estiveram sempre muito presentes e nos contemplaram com suas doudas sugestões para nossa tese.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Resumo

Summary

1– INTRODUÇÃO.....	01
2–OBJETIVOS.....	12
3–MÉTODOS.....	14
3.1 Tipo de estudo.....	15
3.2 População estudada.....	15
3.3 Definição de caso.....	18
3.4 Coleta de dados.....	20
3.5 Coleta de amostras de soja.....	22
3.6 Análise dos dados.....	23
4 – RESULTADOS.....	24
4.1 Características demográficas.....	25
4.2 Presença de sintomas.....	28
4.3 Prevalência de sensibilização (testes de punctura).....	29
4.4 Prevalência de sensibilização (IgE específica).....	52
4.5 Fungos nas amostras de soja.....	55
5 –DISCUSSÃO.....	56
6 – CONCLUSÕES.....	68
7 – ANEXOS.....	70
Anexo I - Métodos e técnicas para identificação dos fungos.....	71
Anexo II - Consentimento pós – esclarecido.....	77
Anexo III - Questionário Isaac modificado.....	79
8 – REFERÊNCIAS.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS

IgE	Imunoglobulina E
cols/ et al	colaboradores
g	grama
C	centígrados
Ku/l	mil unidades por litro
ml	mililitros
cm ²	centímetro quadrado
Fig.	Figura
RAST	Radio Alergo Sorbent test
FMUSP	Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo
p	nível de significância

LISTA DE TABELAS

Tabela .. 1-	Distribuição dos 590 voluntários de acordo com o local de recrutamento, meio (urbano/rural) e tipo de exposição a aerodispersíveis da soja.....	26
Tabela 2-	Distribuição dos voluntários quanto ao sexo em cada localidade.....	27
Tabela 3-	Distribuição dos voluntários quanto à faixa etária em cada localidade.....	28
Tabela 4-	Distribuição dos voluntários sintomáticos e assintomáticos por localidade.....	29
Tabela 5-	Prevalência de sensibilização à soja e a fungos segundo sexo em sintomáticos por localidade	31
Tabela 6-	Resultados dos testes de punctura em operários sintomáticos e assintomáticos da Cargill.....	34
Tabela 7-	Resultados dos testes de punctura entre caminhoneiros com sintomas somente ao lidar com a soja (específicos), em quaisquer ambientes (inespecíficos) e assintomáticos.....	37

Tabela 8- Resultados dos testes de punctura em moradores sintomáticos circunvizinho à Cargill e distantes 18 Km.....	42
Tabela 9- Resultados dos testes de punctura em operários sintomáticos e assintomáticos.de Iporá.....	45
Tabela 10- Resultados dos testes de punctura em operários sintomáticos e assintomáticos de Montividiu.....	47
Tabela 11- Distribuição dos voluntários quanto a reatividade à IgE específica em cada localidade.....	53

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Dados comparativos entre a produção de soja nos EEUU
e no Brasil no período de 1994 a 2002.....04
- Figura 2 - . Prevalência de sensibilização à soja em testes de
punctura nos sintomáticos, segundo a faixa etária.....30
- Figura 3 - . Distribuição dos resultados dos testes de punctura para
soja em voluntários sintomáticos nas diversas localidades 32
- Figura 4.- Distribuição dos resultados dos testes de punctura para
fungos em voluntários sintomáticos nas diversas localidades .32
- Figura 5 - Distribuição percentual dos resultados dos testes de punctura
em voluntários da indústria Cargill de Mairinque.....35
- Figura 6 - . Distribuição quanto à sintomatologia em 107
caminhoneiros.....37
- Figura 7 - . Distribuição percentual segundo resultados dos testes de
punctura em 37 caminhoneiros sintomáticos específicos.....38

Figura 8 - . Distribuição segundo resultados dos testes de punctura em 55 caminhoneiros assintomáticos.....	38
Figura 9 - Distribuição dos resultados dos testes de punctura em caminhoneiros sintomáticos inespecíficos	39
Figura 10 - Distribuição da sensibilização em caminhoneiros independente destes sintomas estarem vinculados com a exposição à poeira de soja.....	40
Figura 11 –Distribuição dos resultados dos testes de punctura em 54 sintomáticos residentes nas proximidades da Cargill de Mairinque (SP).....	42
Figura 12 - Positividade ao teste de punctura em 17 voluntários residentes distantes da refinaria de soja em Mairinque	43
Figura 13 – Gráfico comparativo entre munícipes sintomáticos próximos e distantes da Cargill de Mairinque(SP) quanto aos resultados dos testes de punctura.....	43
Figura 14 – Distribuição percentual dos testes de punctura somente para fungos e soja em sintomáticos do município de Iporá.....	45

Figura 15 - Distribuição percentual dos resultados dos teste de punctura em 169 sintomáticos do município de Montividiu.....	48
Figura 16 - Distribuição percentual de positividade aos testes de punctura em 35 sintomáticos reatores à soja.....	48
Figura 17 - Distribuição dos resultados dos testes de punctura em 127 sintomáticos, não reatores à soja, no município de Montividiu.....	49
Figura 18 - .Distribuição percentual dos resultados dos testes de punctura em 54 indivíduos assintomáticos do município de Montividiu	49
Figura 19 - Distribuição dos testes de punctura segundo a sintomatologia, em voluntários de Montividiu.....	50
Figura 20 - Teste de punctura em 33 sintomáticos no Município de Bom Jesus.....	52
Figura 21- Gráfico percentual comparativo entre testes de punctura e .....IgE em voluntários das diversas localidades.....	54

RESUMO

Pinto RJC. *Poeira de soja inalada e seu impacto epidemiológico no desencadeamento de alergia respiratória* (Tese). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 88 p.

Introdução: Surto de asma, por poeira da soja, têm sido relatados, sobretudo na Espanha, havendo registros de casos fatais. Objetivou-se fazer uma pesquisa exploratória correlacionando exposição, sensibilização e alergia respiratória à soja inalada, no Brasil. **Métodos:** 590 voluntários, de ambos os sexos, de 6 a 80 anos, expostos à poeira de soja há mais de 4 meses. No meio urbano foi contemplado o município de Mairinque(SP) onde foram recrutados 65 operários da refinaria de óleo de soja, 107 caminhoneiros e rastreados no Centro de Saúde 61 portadores de asma e rinite que residem nas proximidades e 17 distantes da referida indústria. Em Goiás, no meio rural, foram estudados 81 voluntários da cidade de Iporá, região onde o cultivo de soja está começando, 223 indivíduos de Montividiu e 36 de Bom Jesus, em meio à lavoura dessa leguminosa. Realizados testes de punctura com extratos da Alk-Abelló (fungos, ácaros e soja) e coletado sangue para dosagem de IgE específica (Pharmacia). **Discussão e Resultados:** os operários da refinaria de óleo, suficientemente protegidos da poeira da soja, apresentaram grande sensibilização a fungos (23%), e em menor grau à soja (15%). Caminhoneiros que transportam soja que fica armazenada, apresentaram importante prevalência de sensibilização a fungos (17%) e à soja (22%) Moradores sintomáticos de Mairinque apresentaram 22% de positividade à soja e 35% a fungos. Indivíduos que vivem em áreas distantes apresentaram apenas 6% de positividade. No meio rural, em Iporá(Go), foram encontrados 13% de sensibilização em face da lavoura incipiente. Em Montividiu e Bom Jesus(Go), em meio à plantação da soja, foram registrados 23% e 33% de testes de punctura positivos enquanto as dosagens de IgE séricas foram de 23% e 9%, respectivamente. Em Montividiu 5% dos sintomáticos apresentaram testes de punctura positivos somente à soja. **Conclusões:** exposição à poeira de soja e sensibilização a esta estão correlacionadas. A sensibilização aos fungos que a colonizam, quando armazenada, não pode ser menosprezada. A grande sensibilização à soja demonstra o impacto epidemiológico desse tipo de poluição no desencadeamento de alergia respiratória no Brasil.

Descritores: sensibilização, poeira de soja, exposição

SUMMARY

Pinto RJC. *Soybean dust inhalation and its epidemic impact in the respiratory allergy* . (thesis).São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2006. 88 p.

Background: Community outbreaks of asthma, by soybean dust inhalation, have been reported, especially in Spain where fatal cases were verified. **Objective:** The aim of the present study was to make a research on exposure, sensitization and respiratory allergy to soybean in Brazil. **Methods:** A population of 590 male and female volunteers, aged from 6 to 80 years old exposed to soybean dust for more than 4 months, were observed. At the urban area, in Mairinque, state of São Paulo, 65 workers and 107 truck drivers of a soybean oil industry were recruited as well as 61 patients with asthma and / or allergic rhinitis living nearby and 17 living far from the pollution of this industry. In the state of Goiás, at the rural area, 81 volunteers from Iporá, city where the soybean fields are beginning, 223 volunteers from Montividiu and 36 from Bom Jesus, cities where soybean plantation is well established, were investigated in this study. Skin prick-tests were performed as well as blood was collected for the search of specific IgE. Extract of Alk Abello for fungi, mites and soybean were used for testing. Specific IgE determinations were made using the Elisa method by the Pharmacia Diagnostics. **Results:** In the urban areas, workers from the oil refinery, reasonably protected from the soybean dust, presented great sensitization to fungi (23%) and a lower degree to soybean (15%). Truck drivers, who carry soybean, presented important prevalence of sensitization to fungi (17%) and to soybean (22%). Twenty two percent of the symptomatic from Mairinque were positive to soybean. People living far from this place presented only 6% of positive reaction. In the rural areas of Iporá, a city considered reasonably exposed to soybean dust we found 13% of sensitization to soybean. In cities surrounded by soybean plantation, as Montividiu, were found 23% positive skin prick-tests and 23% of IgE specific. Also in Bom Jesus were found 33% of positive skin prick-tests and 9% of IgE specific. In the city of Montividiu 5% of the symptomatic patients presented skin prick-tests to soybean seed. **Conclusion:** The exposure to soybean dust and the prevalence of sensitization are correlated and the respiratory allergy can be triggered in exposed subjects. We emphasized that the sensitization to the fungi that colonize soybean storage cannot be underestimated.

1 - INTRODUÇÃO

1 - INTRODUÇÃO

“A soja é uma leguminosa domesticada pelos chineses há cerca de cinco mil anos. Sua espécie mais antiga, a soja selvagem, crescia principalmente nas terras baixas e úmidas, nas proximidades dos lagos e rios da China Central. Há três mil anos a soja se espalhou pela Ásia, onde começou a ser utilizada como alimento. Foi no início do século XX que passou a ser cultivada comercialmente nos Estados Unidos. No Brasil, o grão chegou com os primeiros imigrantes japoneses, em 1908, mas foi introduzida oficialmente no Rio Grande do Sul, em 1914. Porém, a expansão da soja no Brasil aconteceu nos anos 70, com a participação crescente da indústria de óleo e com o incremento do mercado internacional.

O interesse do governo brasileiro pela expansão da soja para atender à indústria fez com que a leguminosa ganhasse cada vez mais incentivos oficiais. Para atender às exigências de produção de uma cultura altamente tecnificada, foi criado em 1975, o Centro Nacional de Pesquisa de Soja, como uma das unidades da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), para que pudesse atender à demanda nacional. Sua principal incumbência era conquistar a independência tecnológica para a produção brasileira, que até então estava concentrada nos estados do sul do país, aproveitando a entressafra da cultura do trigo que, na época, recebia incentivos do governo. A boa adaptação da soja, nas terras do Sul do País, e a crescente demanda do mercado interno e externo deram

estabilidade aos preços do produto no mercado, o que incentivou o aumento da área de plantação.

: região onde atualmente se desenvolve o plantio da soja, variedade Doko.

Fonte: Embrapa

Em pouco tempo, os cientistas da Embrapa não só criaram tecnologias específicas para as condições de solo e clima do País, como conseguiram criar a primeira variedade de soja genuinamente brasileira, a Doko, que permitiu que a soja produzisse em regiões tropicais (Cerrados), onde antes a planta não se desenvolvia. A criação da nova espécie fez muito mais que desbravar as novas fronteiras agrícolas do Brasil, até então consideradas improdutivas. A Doko, e mais tarde a cultivar Tropical, levaram a soja a todas as regiões de clima tropical do mundo”(<http://www.cnpso.embrapa.br/>).

Em matéria veiculada pelo jornal “A Folha de São Paulo” percebemos o avanço dessa cultura, havendo na última década grande

incremento na produtividade por hectare. Como demonstra a figura a seguir, nos tornamos mais competitivos do que os produtores norte-americanos que têm investido em nosso território à procura de mão de obra e terra com preços menos elevados.

Figura 1 - Dados comparativos entre a produção de soja nos EEUU e no Brasil no período de 1994 a 2002
Fonte: Jornal Folha de São Paulo

Em 2004, o Brasil foi o segundo maior produtor mundial de soja, com produção de 50 milhões de toneladas ou 25% da safra mundial, estimada em 200 milhões de toneladas. Esse montante foi menor que a produção de 2003, quando o país produziu 52 milhões de toneladas e participou com quase 27% da safra mundial (Embrapa Soja, 2006).

A presente pesquisa refere-se tão somente a alergia respiratória à soja inalada, não sendo premissa o estudo de alergia alimentar, porquanto diversos estudos a esse respeito já foram publicados.

A lista de agentes conhecidos ou suspeitos de causarem asma ocupacional é incrementada quase que diariamente. A potência e a dose dos antígenos, bem como o tamanho da população exposta, determinam a magnitude do problema. (Conolly e Hendrick , 1984)

Em caminhoneiros que transportam ração de laranja (péletes), foram avaliadas as causas e prevalência de alergia respiratória e concluiu-se que fungos que a colonizam são os responsáveis pelas manifestações de alergia respiratória e não os componentes da própria laranja, como havia suspeita a princípio. Esses trabalhadores, por diversas vezes, referiram a presença de alergia respiratória, de grande monta, também ao transportar soja.(Pinto et al., 2002)

O desenvolvimento de asma à soja inalada resultante de exposição industrial ou agrícola, foi primeiramente reportado por Duke (1934), que descreveu cinco trabalhadores, que desencadearam sintomas respiratórios causados por exposição à farinha de soja.

Subseqüentemente diversos autores têm reportado alergia respiratória associada com exposição ocupacional e para-ocupacional à soja.

Olsen e Prickman (1936) descreveram caso clínico de um paciente com sinais e sintomas característicos de rinite alérgica e asma resultante de contato com poeira de soja.

Wightman (1938), investigou sensibilidade ao grão em trabalhadores que padeceram de asma enquanto cumpriam sua jornada em galpões fechados para armazenamento de soja.

Bronquite asmática também foi descrita por Peters (1965), que relatou caso clínico de uma enfermeira, que desenvolveu sintomatologia respiratória com broncoespasmo associado a rinoconjuntivite ao preparar banhos de imersão à base de proteína de soja para tratamento de pacientes com dermatites.

As bases para os mecanismos dessa entidade foram definidas por Sepulveda e Rivera (1982), que descreveram um antígeno da soja como um potente sensibilizador em trabalhadores expostos.

Edsley (1982) descreveu 53 pacientes com testes positivos para IgE sérica à soja por radioimunoeletroforese (RAST). Este autor descreveu dois antígenos considerados maiores e outros quatro menores.

Um caso clínico de rinite alérgica ocupacional durante a exposição a polvilho de soja, com teste cutâneo de punctura positivo e IgE específica sérica reagente, foi relatado por Kuisu et al. (1980).

Em recente estudo, Bittencourt (2002) investigou e isolou frações antigênicas da soja, classificando-as pelo seu peso molecular e estabelecendo diferentes graus de alergenicidade, conforme a proporção de sua presença no soro de indivíduos sensibilizados.

Diversos antígenos da própria soja foram isolados, existindo predominância de sensibilização diferentes, de acordo com o tipo de exposição. Quirce (2000) aborda esse relevante aspecto ao comparar duas populações distintas, quais sejam: os padeiros, que se sensibilizam a antígenos de alto peso molecular, diversamente dos moradores de cidades portuárias, que em surtos epidêmicos, desenvolvem sensibilização a peptídios de baixo peso molecular.

Bush e Cohen (1977) descrevem caso clínico de um paciente, não previamente sensibilizado a soja, que depois de repetidas exposições à farinha de soja, apresentou sintomatologia respiratória, cujos testes de provocação comprovaram, serem esses sintomas, conseqüentes à poeira de soja inalada.

Vissers (2001) ao analisar a poeira doméstica em habitações de padeiros, detectaram níveis significantes de farinha de trigo e de alérgenos de fungos, que colonizam amiúde esse material orgânico. Ao mesmo tempo, familiares destes trabalhadores, apresentaram sensibilização a esses alérgenos. Em conclusão, sugerem que, poluentes ocupacionais podem ser carregados para os domicílios, através de roupas ou sapatos dos padeiros.

Anto et al. (1989) relatam surtos comunitários de asma, associados à inalação de poeira de soja, durante a década de oitenta, em região vizinha ao cais do porto de Barcelona. É interessante notar que esses autores fizeram uma acurada prospecção da contaminação da atmosfera por aerodispersíveis da soja, mas só posteriormente dosaram IgE específica e fizeram os testes cutâneos. Categoricamente, concluíram que esses

processos são desencadeados por componentes da própria soja. Todavia, não poderiam esses surtos serem decorrentes de contaminação fúngica dessas cargas?

Atualmente, esse mesmo grupo de pesquisadores, dedica-se a essa problemática e seus estudos são referência mundial. Entretanto, carecem pesquisas nesse sentido, em território brasileiro.

White et al. (1997) reexaminando o surto epidêmico de asma em Nova Orleans na década de cinquenta, sugerem que as causas podem ter sido as mesmas dos incidentes de Barcelona, uma vez que a comunidade estava exposta aos mesmos aerodispersíveis provenientes da soja.

Rodrigo et al. (2004) detectaram significativa diminuição dos níveis de poeira de soja na atmosfera de Barcelona, em decorrência da instalação de filtros nos silos de armazenamento a partir de 1998. Concluíram que tais medidas foram eficazes no sentido de minimizar a prevalência de surtos comunitários de asma, causada por esses poluentes.

Codina et al. (2004) descreveram sensibilização a alérgenos da poeira de soja, em populações sujeitas a diferentes níveis de exposição na Argentina, correlacionando-os ao aumento da gravidade dos sintomas de asma. Os grupos foram subdivididos em indivíduos diretamente expostos, os quais apresentaram 38% de positividade aos testes de punctura para soja, indiretamente expostos (20%) e com exposição urbana eventual (8%). Paralelamente, foram encontrados altos níveis de IgE específica para soja. Dando continuidade a essa pesquisa, Codina e Lockey 2004, investigaram três grupos de indivíduos em Barcelona, onde grassam sintomas

relacionados a asma epidêmica por soja. Dosaram IgE específica e realizaram testes cutâneos para soja e fungos mais encontradiços nas culturas das amostras. No primeiro grupo de asmáticos, considerados epidêmicos, foi encontrada sensibilização significativa a fungos, tanto nos testes de punctura, quanto nas dosagens de IgE específica, o que não ocorreu, na mesma proporção, no grupo de asmáticos não epidêmicos e no grupo de não asmáticos. Por conseguinte, concluem sobre o possível envolvimento dos fungos, que colonizam os silos de soja, como agentes etiológicos secundários, em surtos de asma epidêmica por poeira de soja.

Durante surto epidêmico de asma comunitária na cidade de Tarragona, Garcia-Ortega et al (1998), analisaram as características da enfermidade prévia, os parâmetros clínicos das crises e a evolução imediata de 15 pacientes que acudiram às unidades de emergência, por crise de asma, em dias epidêmicos. Destes, 13 estavam sensibilizados à proteína de soja. Todos eram atópicos, sensibilizados a ácaros da poeira doméstica e sua metade iniciou a asma em idade superior aos 30 anos. As crises em dias epidêmicos foram particularmente graves, necessitando que quatro destes, dessem ingresso em unidade de terapia intensiva.

Soriano et al. (1997) hipotetizam sobre um possível papel de antígenos leucocitários humanos (HLA Classe II), que atuam como determinantes genéticos no desencadeamento de sintomas, em indivíduos susceptíveis, uma vez que em indivíduos afetados nos surtos epidêmicos de asma comunitária em Barcelona, foi detectada a presença dos mesmos.

Synek et al (1996) avaliaram material de biópsia do epitélio brônquico *pós morte* em sete casos fatais de asma, induzida por poeira de soja e os compararam a 23 casos, igualmente letais, em população não exposta à soja. Revelaram diferenças significativas nas contagens de CD3 e CD8, sugerindo que provavelmente se devam ao mecanismo de anafilaxia induzido no primeiro grupo.

Roodt e Rees (1995) compararam dois grupos de trabalhadores expostos (n=22), ou não (n=20), à poeira da soja. De acordo com os autores, os testes imunológicos (dosagens de IgE sérica específica e testes cutâneos de punctura) não são suficientes para detectar indivíduos sintomáticos, mas são úteis para aferir prevalência de exposição.

Ballester avaliando a incidência de procura por consultas de emergência, devido a crises de asma, em dias de descarregamento de soja, nas cidades de Valencia e Coruna (Espanha), encontraram incremento significativo e sugerem que sejam implementadas medidas de controle, apropriadas, para reduzir a dispersão de poeira de soja, sobretudo em portos com populações radicadas em sua vizinhança.

Zuskin et al. (1990) comparando um grupo de “sojeiros” (indivíduos que trabalham com soja), com testes cutâneos e IgE positivos somente para soja, com outro grupo positivo apenas para poeira domiciliar (ácaros), não identificaram um maior fator de risco em desenvolver sintomas respiratórios. Sugerem que, em adição aos mecanismos atópicos, um efeito irritante da poeira da soja, pode ter um papel no desencadeamento de doença respiratória ocupacional. Em adição a esses estudos, esses autores

estudaram um grupo de 29 “sojeiros” expostos aos vapores produzidos na extração do óleo de soja. Após análise dos valores preditos de capacidade ventilatória, sugerem que, a exposição a que estão sujeitos, pode provocar prejuízo, em longo prazo, na função respiratória de alguns trabalhadores.

Diante do exposto pode-se admitir que, na medida em que ocorre um aumento na produtividade, também problemas de ordem ocupacional podem advir desse cultivo tanto no transporte como no armazenamento da soja.

Existe um grande número de publicações abordando os distúrbios de hipersensibilidade ocasionados pela ingestão de derivados da soja, inclusive em nosso meio. Não obstante, a contaminação atmosférica por aerodispersíveis oriundos da soja e seu potencial de provocar surtos comunitários de alergia respiratória, ainda carece de elucidação ou necessitam de estudos preliminares no Brasil. A presente pesquisa tem, pois, o propósito de rever alguns aspectos epidemiológicos sobre o desencadeamento dos processos alérgicos motivados pela exposição à poeira desses alimentos, bem como ser pioneira em nosso território, uma vez que não foi encontrada nenhuma menção na literatura sobre estudos a esse respeito, em nosso País.

2 - OBJETIVOS

2 - OBJETIVOS

2.1 Estimar a prevalência de sensibilização conseqüente a inalação de diferentes concentrações de poeira de soja em meios industriais, urbanos ou rurais.

2.2 Distinguir os antígenos envolvidos, determinando se são proteínas da própria soja ou de fungos que colonizam esses materiais.

3 – MÉTODOS

3 – MÉTODOS

3.1 *Tipo de estudo*

Foi feito um estudo transversal, exploratório, com o intuito de averiguar se existe associação entre exposição à poeira de soja e sensibilização em nosso território. Organizou-se a pesquisa tendo em vista a necessidade de entrevistar, coletar sangue e realizar testes cutâneos em um grande contingente de voluntários em localidades diversas, tanto no meio urbano quanto no meio rural.

3.2 *População estudada*

Foram estudados diferentes subgrupos populacionais tais como:

- Urbano – foi escolhido um município que abrigasse uma refinaria de óleo de soja, no caso a cidade de Mairinque (SP) onde foram recrutados operários da indústria Cargill. Também se inscreveram no estudo caminhoneiros voluntários que adentram ao pátio de estacionamento. No Centro de Saúde mais próximo à fábrica foram rastreados portadores de asma e rinite que residem nas proximidades e a 18 Km de distância.
- Rural – em regiões agrícolas em meio à lavoura de soja e um pouco mais distantes foram recrutados indivíduos que se apresentaram como voluntários. Foi eleito o estado de Goiás por estar até aquele momento livre do cultivo da soja transgênica. Optou-se pela cidade

de Iporá, região onde o cultivo de soja estava começando e pelos municípios de Montividiu e de Bom Jesus, localidades com grandes lavouras de soja. A justificativa para seleção destas localidades refere-se à necessidade de estudar populações expostas a diferentes níveis de concentração de poeira de soja no ambiente.

Crítérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo dois grupos de voluntários de ambos os sexos, com idade de 6 a 80 anos e que atendessem ainda aos seguintes critérios:

a) Sintomáticos

Voluntários com queixas respiratórias crônicas, recorrentes ou somente quando em meio à poeira de soja. Estes deveriam estar vivendo em contato com a poeira da soja há mais de quatro meses. Acredita-se que esse seria o período médio de exposição a alérgenos inalantes necessário para ocorrência de sensibilização. Não existe, entretanto, na literatura, informação precisa sobre o tempo de exposição necessário para o aparecimento de sintomatologia respiratória em indivíduos expostos à poeira de soja.

b) Assintomáticos:

Voluntários que atendessem ao critério de tempo de exposição definido anteriormente e que não apresentassem a sintomatologia clínica referida. Esse grupo foi considerado como controle.

Crítérios de Exclusão

Foram excluídos deste estudo os indivíduos que se apresentassem com as seguintes condições:

- Cardiopatias clinicamente caracterizadas
- Voluntários com doenças que possam deprimir o sistema imunológico (estados febris, neoplasias malignas e síndrome da imunodeficiência adquirida)
- Embriaguez
- Uso de anti-histamínicos nas últimas 72 horas
- Uso de corticoides sistêmicos há mais do que sete dias
- Gravidez

Todos os voluntários que se apresentaram e que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão foram inseridos na amostra.

Os voluntários que concordaram em participar receberam um consentimento pós-esclarecido no qual, após leitura, apuseram suas assinaturas. Em caso de analfabetismo o mesmo foi lido por membro da

própria comunidade e o voluntário em questão deixou sua impressão digital marcada no documento.

3.3 Definição de caso:

Valorizaram-se como queixas consistentes os sintomas rinoconjuntivais (espirros, lacrimejamento e prurido naso-ocular), tosse, chiado ou dispnéia.

3.3.1 Sintomáticos - para distinguir quais voluntários poderiam ser classificados como sintomáticos e, em decorrência, verificar quais seriam os controles (assintomáticos), foi utilizado o questionário ISAAC modificado segundo Gagete (2005). (ANEXO III)

Classificam-se como sintomáticos, no presente estudo, aqueles cujas manifestações clínicas são compatíveis com o diagnóstico de rinite ou asma moderada ou grave, mesmo que não seja de maneira persistente. Tais critérios são referendados por recente publicação, na qual os autores sugerem a adequação dos parâmetros de classificação quando se tratarem de sintomas sazonais e ou ocupacionais (Bauchau e Durham, 2005).

3.3.2 Sensibilização - a presença de sensibilização aos alérgenos inalantes contidos na poeira da soja foi verificada por meio dos testes cutâneos de punctura e dosagem de IgE sérica específica.

Testes cutâneos de leitura imediata: ("Prick-test")

Foram empregados extratos fornecidos pela Alk-Abelló (Dinamarca) contendo os seguintes substratos: *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Acarus siro*, *Lepdoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Cladosporium fulvum*, *Aspergillus sp*, *Rhizopus sp*, *Alternaria tenuis*, *Penicillium notatum* e *Penicillium expansum*, *Neurospora sp* e soja. O teste cutâneo foi realizado através de punctura com lancetas de aço inoxidável, estéreis e descartáveis. Após 15 minutos do início do mesmo, realizaram-se as leituras (Pepys, 1970). Adotou-se a técnica de circundar as pápulas formadas com caneta esferográfica de cor azul e ato contínuo foi aderida uma fita adesiva transparente ao antebraço em questão sendo retirada com a impressão da tinta, registrando assim os testes para posterior consulta. Essas fitas foram coladas à ficha de cada voluntário da amostra a fim de documentar os testes. Foram considerados testes positivos aqueles cujas pápulas foram iguais ou maiores que 3 mm de diâmetro.

Dosagem de IgE (fungos, ácaros e soja)

Utilizou-se a técnica tradicional de garrotear o braço do voluntário, fazer a assepsia com algodão embebido em álcool e coletar cerca de 5ml de sangue em plexo venoso a nível cubital, com agulha 30/8 e seringa estéreis (Beckton Dickson).

A dosagem de anticorpos tipo IgE específica foi feita através de quimioluminescência, respaldada em experiência anterior no trabalho de mestrado (Pinto,2002), uma vez que tal método, mostrou boa sensibilidade e especificidade. Utilizou-se o analisador Immulite que emprega uma tecnologia patenteada (Pharmacia, patente americana nº 4778751), explorando a cinética líquida num formato de pérola, que representa um avanço significativo comparado aos métodos convencionais dependentes de alérgenos anexados ao suporte de fase sólida, como um disco de papel. Os alérgenos são ligados covalentemente a uma matriz de polímero/copolímero solúvel, que por sua vez é rotulada com um ligante; o anti-ligante é colocado sobre a pérola de polistireno para captar os alérgenos rotulados pelo ligante.

3.4 Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada com a colaboração de duas profissionais, técnicas de enfermagem, que receberam treinamento no ambulatório de Alergia do Hospital das Clínicas (FMUSP) a fim de efetuarem os testes de contato e coletarem as amostras de sangue. Os questionários foram aplicados pelo próprio pesquisador. Todo material coletado foi acondicionado em recipientes próprios e transportado em baixas temperaturas em caixas para isolamento térmico. As dosagens de IgE específica foram realizadas no Laboratório de Imunologia do INCOR por profissional técnico habilitado.

É imprescindível tecer alguns comentários a respeito de como foram convocados os voluntários da amostra, uma vez que este

procedimento teve íntima relação com o ambiente de trabalho dos operários, dos caminhoneiros e com os hábitos culturais da população radicada em áreas produtoras de soja.

- Refinaria de óleo de soja (Cargill):

No ambiente fabril, o próprio Departamento de Pessoal se incumbiu de orientar os operários quanto à importância de colaborar com a pesquisa. Os voluntários que procuraram a equipe de pesquisa no ambulatório médico foram então incluídos na amostra.

- Pátio dos Caminhões:

A equipe postou-se a partir das 5 horas da manhã até às 11 horas e no período vespertino das 14 horas às 17 horas, durante 10 dias não consecutivos, no interior do restaurante do pátio. A amostra foi constituída de acordo com a procura espontânea dos caminhoneiros.

- Centro de Saúde de Mairinque:

Como o interesse era detectar sensibilização nos pacientes com asma e rinite do município, foi solicitada autorização do Secretário de Saúde, que franqueou acesso aos prontuários. A própria enfermeira sanitária da unidade convocou os voluntários e os que compareceram foram incluídos na amostra.

- Portal do Sol:

Tal comunidade dista 18 Km da refinaria de óleo de soja e foi escolhida para se ter uma comparação com a comunidade radicada nos arredores da fábrica. A equipe entrou em contato com a administração do condomínio Portal do Sol. A maioria das pessoas que residem nesse local são caseiros e suas famílias que trabalham nas chácaras. O administrador explicou as razões da pesquisa e solicitou aos que quisessem colaborar que comparecessem ao Centro de Saúde de Mairinque. Os voluntários que atenderam à convocação foram incluídos na amostra.

- Iporá, Montividiu e Bom Jesus (Go):

Nesses pequenos municípios a convocação foi feita através das emissoras de rádio regionais. A amostragem foi constituída pelos voluntários que compareceram ao posto de saúde local.

3.5 Coleta de amostras de soja:

Na medida em que foram percorridas as localidades contempladas no estudo, coletaram-se amostras de soja para identificação dos fungos que amiúde colonizam matérias orgânicas. Foi analisada a soja oriunda de silos e de caminhões, a fim de identificar fungos que a colonizam. Em todas as caçambas de caminhões que adentram a indústria, o laboratório de controle de qualidade da própria Cargil rotineiramente recolhe amostras de soja através de instrumentos mecânicos automatizados,

próprios para análise e classificação. Algumas destas foram cedidas e utilizadas para os fins da pesquisa. Nos silos onde a soja fica armazenada após a colheita, teve-se sempre o esmero de manuseá-las com luvas estéreis para que crescessem nos meios de cultura somente os seus contaminantes naturais. O processo de coleta das amostras foi através de placas de Petri estéreis, onde foram armazenados os grãos e o farelo de soja. As amostras foram levadas ao laboratório de Micologia da UNESP (Araraquara), semeadas em meios de cultura (agar Sabouraud) para fungos e repicadas quinzenalmente nesses mesmos meios que foram preparados pelos próprios funcionários do laboratório seguindo técnica padronizada (Lacaz, 1998). Após crescimento das colônias, realizaram-se microcultivos e semeadura de colônias gigantes para posterior identificação. Finalmente foram preparadas lâminas de todas as colônias com identificação dos fungos por microscopia ótica.

3.6 Análise dos dados:

A análise dos dados consistiu em construção de tabelas de frequência e gráficos. Para identificar possíveis associações entre variáveis qualitativas foram utilizados os testes de Qui-Quadrado e Exato de Fisher. O nível de significância usado em todos os testes foi de 5%.

Utilizamos o programa Excell e o programa Stata, versão 8.0, para entrada de dados e análise, respectivamente.

4 - RESULTADOS

4 - RESULTADOS

Foram incluídos nesse estudo 590 voluntários.

4.1 Características demográficas

Os indivíduos estudados foram voluntários de diversas localidades, expostos potencialmente a diferentes níveis de concentração de aerodispersíveis da soja.

Na Tabela 1 identificam-se os diversos segmentos da amostra de acordo com o local de recrutamento, que incluiu populações de áreas urbanas industriais, no entorno e distantes da fonte de poluição industrial. No meio agrícola foram contempladas localidades de baixa ocupação por lavoura de soja onde esta cultura ainda era incipiente e de alta ocupação, cujos cidadãos estavam intensamente expostos aos aerodispersíveis. A fim de se ter uma população controle para comparação com os sintomáticos da cidade de Mairinque, onde fica situada a refinaria de óleo de soja, foi escolhida uma comunidade fechada, radicada em um condomínio chamado Portal do Sol, distante 18 Km da Cargill. Deste local foram estudados 17 voluntários, em sua maioria caseiros e familiares que apresentavam sintomatologia respiratória e se dispuseram a colaborar com o estudo.

Tabela 1 – Distribuição dos 590 voluntários de acordo com o local de recrutamento, meio (urbano/rural) e tipo de exposição a aerodispersíveis da soja

Local	Operários Cargill	Caminhões Cargill	Mairinque (SP)	Portal (SP)	Iporá (GO)	Montividiu (GO)	BomJesus GO)
Meio	urbano	urbano	urbano	urbano	rural	rural	rural
Tipo de exposição	refinaria	pátio da refinaria	vizinhos	distante	lavoura inicial	exposição intensa	exposição intensa
n	65	107	61	17	81	223	36
%	11	18	10	3	14	38	6

Na Tabela 2 observa-se que na maioria das amostras houve um discreto predomínio do sexo feminino, excetuando-se entre os operários da Cargill onde havia cerca de dois terços do sexo masculino e no meio dos caminhoneiros, no qual havia apenas uma voluntária que acompanhava o cônjuge em suas viagens.

Tabela 2 - Distribuição dos voluntários quanto ao sexo em cada localidade.

	Masculino		Feminino		Total	
	n	%	n	%	n	%
Cargill	45	69	20	31	65	100
Caminhões	106	99	1	1	107	100
Mairinque	22	36	39	64	61	100
Portal	7	41	10	59	17	100
Iporá	37	46	44	54	81	100
Montividiu	103	46	120	54	223	100
Bom Jesus	12	33	24	67	36	100
TOTAL	332	56	258	44	590	100

Subdividiu-se a amostra quanto à idade em: crianças (6 a 11 anos), adolescentes (12 a 17 anos), adultos (18 a 59 anos) e idosos (acima de 60 anos). A seguir, na Tabela 3, pode-se observar a distribuição nas diferentes faixas etárias, salvo entre os caminhoneiros e funcionários da Cargill, onde não eram empregados menores de idade e não existia nenhum voluntário com idade superior a 60 anos.

Tabela 3 - Distribuição dos voluntários quanto à faixa etária em cada localidade.

	Cargill		Caminhão		Mairinque		Portal		Iporá		Montividiu		BomJesus	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
6 a 11 anos	-		-		5	8	6	35	10	12	19	9	11	31
12 a 17 anos	-		-		6	10	2	12	3	4	22	10	4	11
18 a 59 anos	65	100	107	100	38	62	7	41	48	59	137	61	18	50
= 60 anos	-		-		12	20	2	12	20	25	45	20	3	8
Total	65	100	107	100	61	100	17	100	81	100	223	100	36	100

4.2 Presença de sintomas

Na Tabela 4 são apresentados os sintomáticos e assintomáticos em cada localidade. Em algumas, o número de assintomáticos é muito pequeno, tal como no município de Bom Jesus. Sendo assim, foi utilizado como grupo controle os próprios assintomáticos de Montividiu, uma vez que são localidades muito semelhantes quanto ao nível de exposição à poeira da soja. Na comunidade do Portal do Sol não houve disponibilidade de voluntários assintomáticos. Nesse caso, o interesse do estudo, foi comparar pessoas que moram na vizinhança da indústria (Mairinque) com sintomáticos distantes (Portal).

Tabela 4 – Distribuição dos voluntários sintomáticos e assintomáticos por localidade

	Sintomáticos		Assintomáticos		Total	
	n	%	n	%	n	%
Cargill	34	8	31	17	65	100
Caminhões	52	13	55	30	107	100
Mairinque	54	14	7	4	61	100
Portal	17	4	-	-	17	100
Iporá	46	11	35	19	81	100
Montividiu	169	42	54	29	223	100
Bom Jesus	33	8	3	1	36	100
TOTAL	405	100	185	100	590	100

4.3 Prevalência de sensibilização à soja e a fungos segundo testes de punctura

Na Figura 2 observa-se a prevalência de sensibilização à soja e aos fungos nas diversas faixas etárias. Quanto aos fungos, não existe diferença estatística significativa, permanecendo a sensibilização sempre em torno de 20%. Entretanto, nota-se uma tendência a maior sensibilização à soja de acordo com o avançar da idade, sendo os idosos a faixa mais atingida.

Figura 2. Prevalência de sensibilização à soja em testes de punctura nos sintomáticos, segundo a faixa etária.

Na Tabela 5 observa-se a prevalência de sensibilização à soja e aos fungos quanto a sexo. Ao desagregar os dados dessa maneira são obtidos subgrupos pequenos e com valores muito próximos, dificultando a comparação estatística. Na maioria das localidades não há diferença importante entre sensibilização aos fungos e à soja quanto a sexo, com exceção à soja em Iporá e a fungos em Bom Jesus ($p < 0,05$).

Tabela 5 – Prevalência de sensibilização à soja e a fungos segundo sexo em sintomáticos por localidade

	MASCULINO				FEMININO			
	SOJA		FUNGOS		SOJA		FUNGOS	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Cargill (refinaria)	2	10	3	15	3	21	5	35
Caminhões (pátio)	8	22	9	17	1	3	1	3
Mairinque (vizinhança)	4	22	7	38	8	22	12	32
Portal (distante)	1	14	2	28	-	-	5	50
Iporá (baixa exposição)	1	4	4	18	6	23	6	23
Montividiu (intensa exposição)	19	23	15	18	20	23	16	18
Bom Jesus (Intensa exposição)	3	27	2	18	8	36	8	36

Nas Figuras 3 e 4, apresentadas a seguir, se têm numa visão geral a distribuição de prevalência segundo testes de punctura para fungos e soja em todos os locais de recrutamento.

Figura 3. Distribuição dos resultados dos testes de punctura para soja em voluntários sintomáticos nas diversas localidades

Houve significância estatística ($p < 0,05$) em todas localidades com exceção à soja entre os operários da Cargill.

Figura 4. Distribuição dos resultados dos testes de punctura para fungos em voluntários sintomáticos nas diversas localidades

A seguir é feita a análise de prevalência de sensibilização segundo teste de punctura, por localidade. Primeiramente são apresentados os meios fabril e urbano, deixando para o final o meio rural.

Os dados serão mostrados em sua totalidade nas tabelas. Nas figuras estão omitidos os dados referentes à prevalência de sensibilização aos ácaros a fim de tornar os gráficos mais discerníveis. Indivíduos atópicos são rotineiramente sensibilizados a estes e foge ao objetivo do estudo determinar essa prevalência (Baggio e cols., 1993)

Note-se na Tabela 6 a moderada prevalência de sensibilização à soja.

Tabela 6 - Resultados dos testes de punctura em operários sintomáticos e assintomáticos da Cargill

Puntura	Neg	Soja	Ácaro	Fungo	Soja + Ácaro	Soja + Fungo	Ácaro + Fungo	Soja + Ácaro + Fungo
Sintomá- ticos n = 34	8	1	15	-	2	-	6	2
Assinto- máticos n = 31	23	4	2	-	-	-	2	-

Na Figura 5 percebe-se a moderada presença de sensibilização à soja no meio fabril ao mesmo tempo em que se nota a marcante sensibilização aos fungos.

Figura 5. Distribuição percentual dos resultados dos testes de punctura em voluntários da indústria Cargill de Mairinque incluindo apenas soja e fungos.

Expõe-se a seguir os dados referentes ao grupo dos caminhoneiros. Tais informações foram coletadas enquanto estes aguardavam o descarregamento da soja no pátio da fábrica da Cargill no município de Mairinque.

Amostra 2 - Caminhoneiros

Localização: Pátio da Cargill
População alvo: Voluntários
Procedência: Diversas regiões
Inscritos: 107 Voluntários

Na Tabela 7 observa-se que entre os caminhoneiros há uma subdivisão: indivíduos que apresentam sintomas somente ao lidar com a soja, denominados específicos e aqueles que apresentam sintomas em quaisquer ambientes, dito inespecíficos. Frisa-se que apenas nesse tipo de exposição foi possível estabelecer esse critério. Esta distinção torna-se importante para perceber que a sensibilização difere qualitativamente nos dois subgrupos.

Tabela 7 – Resultados dos testes de punctura entre caminhoneiros com sintomas somente ao lidar com a soja (específicos), caminhoneiros com sintomas em quaisquer ambientes (inespecíficos) e assintomáticos.

	Ácaros	Fungos	Ácaros + fungos	Soja	Negativos
Específicos n=37	6	1	8	8	14
Inespecíficos n=15	4	-	1	-	10
Assintomáticos n=55	4	1	1	1	48

Na Figura 6 está representada a quantidade de voluntários sintomáticos entre os caminhoneiros.

Figura 6. Distribuição quanto à sintomatologia em 107 caminhoneiros (específicos: sintomas relacionados diretamente à exposição à soja. Inespecíficos: sintomas aparecem mesmo quando distantes da exposição).

Observa-se na Figura 7 que caminhoneiros que lidam com a soja apresentam a tendência de se sensibilizarem aos fungos que a colonizam e à própria soja.

Figura 7. Distribuição percentual segundo resultados dos testes de punctura em 37 caminhoneiros sintomáticos específicos.

Na Figura 8 se observa, como era de se esperar em indivíduos assintomáticos, que a maioria apresentou testes de punctura negativos.

Figura 8. Distribuição segundo resultados dos testes de punctura em 55 caminhoneiros assintomáticos

Em caminhoneiros, cujos sintomas aparecem em quaisquer ambientes, a prevalência de sensibilização aos ácaros é predominante (Figura 9).

Figura 9. Distribuição dos resultados dos testes de punctura em 15 caminhoneiros sintomáticos inespecíficos

Na Figura 10 estão representados, em sintomáticos, todos aqueles que apresentam rinite e/ou asma persistente moderada ou grave, independentemente de estarem vinculados especificamente com exposição à poeira da soja ou em quaisquer atividades (denominados inespecíficos).

Figura 10. Distribuição da sensibilização em caminhoneiros independente destes sintomas estarem vinculados com a exposição à poeira de soja

A fim de avaliar a influência da dispersão da poeira da soja no município onde se acha localizada a refinaria de óleo, perquiriu-se os voluntários do município de Mairinque cujos dados são apresentados a seguir. Com o intuito de se comparar a sensibilização à poeira da soja entre comunidades próximas e distantes da Cargill, foram convocados 17 voluntários sintomáticos de uma localidade a 18 Km do município que vivem em um condomínio fechado chamado Portal do Sol.

Na Tabela 8 apresentam-se dados que permitem comparar indivíduos que moram perto da refinaria de óleo de soja com outros que residem a 18 Km de distância. Nota-se que nessa localidade há desprezível sensibilização à soja quando comparada com a vizinhança da Cargill.

Tabela 8 - Resultados dos testes de punctura de moradores sintomáticos circunvizinhos à Cargill e distantes a 18 Km (n = 71)

	Ácaros	Ácaros + soja	Ácaros + fungos	Ácaros + fungos + soja	Negativos
Vizinhos n = 54	15	5	12	7	15
Distantes n = 17	6	1	7	-	3

Observa-se que munícipes expostos constantemente a uma atmosfera permeada de antígenos da soja apresentam sensibilização a esta, ainda que os fungos representem 35% da positividade da amostra. Em sete indivíduos controles não foi encontrada positividade à soja (Figura 11).

Figura 11 Distribuição dos resultados dos testes de punctura em 54 sintomáticos residentes nas proximidades da Cargill de Mairinque (SP)

Na Figura 12 observamos, em valores unitários, que houve desprezível sensibilização à soja.

Figura 12. Positividade ao teste de punctura em 17 voluntários sintomáticos residentes distantes da refinaria de soja em Mairinque

Ao compararmos as duas localidades notamos a diferença significativa entre os dois grupos (Figura 13).

Figura 13. Gráfico comparativo entre munícipes sintomáticos próximos e distantes da Cargill de Mairinque(SP) quanto aos resultados dos testes de punctura

Em seqüência estão apresentados os dados das regiões agrícolas produtoras de soja. Primeiramente foram recrutados voluntários em um município de Goiás, chamado Iporá, onde a cultura da soja estava iniciando. Nesta região de baixa produção de soja os voluntários apresentavam-se discretamente expostos aos aerodispersíveis. A maior concentração da lavoura de soja distava 140 Km.

Foto: Posto de Saúde do município de Iporá (GO)

Observa-se na Tabela 9 que os indivíduos desta localidade apresentam sensibilização à soja em torno de 13% sendo necessário compará-los com aqueles que vivem em regiões de grande produção de soja.

Tabela 9 - Resultados dos testes de punctura em operários sintomáticos e assintomáticos de Iporá

Punctura	Neg	Soja	Ácaro	Fungo	Soja Ácaro	Soja Fungo	Ácaro Fungo	Soja Ácaro Fungo
Sintomá- ticos n=51	17	3	18	-	3	-	9	1
Assinto- máticos n=30	18	-	7	-	1	-	2	1

Como podemos observar na Figura 14, a prevalência de positividade à soja é de 13% entre os sintomáticos havendo importante sensibilização aos fungos.

Figura 14 - Distribuição percentual dos testes de punctura somente para fungos e soja em sintomáticos do município de Iporá.

Nas regiões agrícolas de grande produção de soja foi concentrado o esforço de recrutamento de voluntários. Os dados coligidos são apresentados a seguir.

Foto: Centro de Saúde do município de Montividiu

Amostra 5 : Montividiu

População Alvo: Sintomáticos respiratórios intensamente expostos à soja

Localização: Oeste de Goiás

Procedência: Centro, bairros e população rural

Inscritos: 223 voluntários

(169 sintomáticos e 54 assintomáticos.)

Na Tabela 10 se distingue alta prevalência de sensibilização à soja, que apresentou significância estatística ($p < 0,05$) quando se comparou grupo de sintomáticos com o grupo controle (assintomáticos).

Tabela 10 - Resultados dos testes de punctura em operários sintomáticos e assintomáticos de Montividiu

	Neg	Soja	Ácaro	Fungo	Soja Ácaro	Soja Fungo	Ácaro Fungo	Soja Ácaro Fungo
Sintomá- ticos n = 169	52	20	53	-	20	-	19	9
Assinto- máticos n = 54	34	2	13	1	-	-	4	-

Na Figura 15 fica mais evidente a grande presença de sensibilização à soja (23%) entre os moradores voluntários de Montividiu.

Figura 15. Distribuição percentual dos resultados dos testes de punctura em 169 sintomáticos do município de Montividiu (voluntários que compareceram ao centro de saúde provenientes da cidade e de seus arredores).

Na Figura 16 acha-se a distribuição de positividade aos testes de punctura em 35 sintomáticos reatores à soja. É extremamente pertinaz enfatizar que ao se considerar a amostra de todos os sintomáticos com reação cutânea de punctura positiva à soja, seis indivíduos tinham sintomas que eram desencadeados apenas pela soja.

Figura 16. Distribuição percentual de positividade aos testes de punctura em 35 sintomáticos reatores à soja.

Na Figura 17 percebe-se a presença marcante dos fungos (20%), no desencadeamento de sensibilização em meios rurais. A alta prevalência de positividade aos ácaros já era esperada em uma população atópica.

Figura 17. Distribuição dos resultados dos testes de punctura em 127 sintomáticos, não reatores à soja, no município de Montividiu

Notadamente em indivíduos assintomáticos (Figura 18), em regiões de intensa exposição à poeira da soja, a prevalência de sensibilização é significativamente pequena ($p < 0,05$ quando comparados com indivíduos sintomáticos).

Figura 18. Distribuição percentual dos resultados dos testes de punctura em 54 indivíduos assintomáticos do município de Montividiu. (controles)

Na figura 19 são apresentados os dados em conjunto a fim de tornar mais fácil a comparação.

Figura 19. Distribuição dos testes de punctura segundo a sintomatologia, em voluntários de Montividiu.

Ultimando, são colocados os dados da cidade de Bom Jesus que possui características semelhantes ao município de Montividiu. Situa-se em região com extensas plantações de soja, porém um pouco mais urbanizada e industrializada.

C

Os voluntários do município de Bom Jesus foram, na maioria, sintomáticos. Adotou-se como grupo controle, os próprios assintomáticos de Montividiu, uma vez que o pequeno número de assintomáticos nesse município, apenas três, não autoriza comparações estatísticas.

Na Figura 20 estão os resultados dos testes cutâneos de leitura imediata à soja (33%) dos voluntários de Bom Jesus. Nessa localidade havia somente três assintomáticos, não reatores aos testes de punctura.

Figura 20. Teste de punctura em 33 sintomáticos no Município de Bom Jesus

4.4 Prevalência de sensibilização à soja e a fungos segundo dosagens de IgE específica

Em 412 voluntários sintomáticos 22% apresentaram presença de IgE para soja enquanto no grupo controle foram encontrados 12% ($p = 0,005$). Detectou-se 14% de positividade para fungos e 58% para ácaros nos sintomáticos e no grupo controle 10% e 34% respectivamente.

Os resultados das dosagens de IgE específica em algumas localidades não acompanharam a mesma tendência de alta prevalência de sensibilização à poeira de soja, dados pelos testes cutâneos. Ainda assim, confrontando os dados obtidos com os grupos controles notam-se diferenças, com significância estatística (p não significativa apenas nos operários da Cargill), conforme se observa na Tabela 11.

Tabela 11 – Distribuição da porcentagem de voluntários quanto a reatividade à IgE específica em cada localidade

		SOJA %	FUNGOS %	ÁCAROS%
Operários da Cargill	Sintomáticos	3	-	20
	Assintomáticos	3	3	7
Caminhoneiros	Sintomáticos	19	10	56
	Assintomáticos	7	-	27
Vizinhança CS Mairinque	Sintomáticos	13	4	70
	Assintomáticos	6	6	57
Distantes Portal do Sol	Sintomáticos	-	12	47
	Assintomáticos	-	-	-
Iporá (Baixa exposição)	Sintomáticos	15	4	52
	Assintomáticos	9	3	24
Montividiu (intensa)	Sintomáticos	22	14	58
	Assintomáticos	12	9	36
Bom Jesus (intensa)	Sintomáticos	9	-	48
	Assintomáticos	-	-	6

Na Figura 21 estão reproduzidos graficamente os dados comparativos entre os resultados obtidos em cada localidade quanto à positividade aos testes cutâneos de punctura e à presença de reação positiva à IgE para soja.

Figura 21. Gráfico percentual comparativo entre testes de punctura e IgE em voluntários das diversas localidades.

4.5 Prevalência de colonização por fungos em placas de Petri com amostras de soja:

Em 80% das amostras houve crescimento de fungos. Na maioria cresceram mais do que um fungo, sendo os mais encontrados: *Cladosporium sp*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* e *Neurospora sp*.

5 - DISCUSSÃO

5 - DISCUSSÃO

Ensaio epidemiológico em estudos exploratórios abertos, prestam-se sobretudo a fazer um levantamento em geral do problema em questão. Na presente pesquisa, objetiva-se através de um estudo transversal, situar e estimar a incidência de sensibilização mediante exposição à poeira da soja, em grupos populacionais distintos. Os resultados encontrados, são indicadores gerais e poderão nortear futuras pesquisas.

Ressalte-se que, apesar das dificuldades de deslocamento, devido às longas distâncias percorridas, o propósito inicial foi atingido, que era entrevistar um grande número de voluntários expostos em localidades e regiões com características diferentes.

Para que se pudesse aferir com precisão a prevalência de sintomatologia seria necessário que os mesmos fossem sorteados por domicílio. Esse procedimento não foi possível devido a algumas peculiaridades. Ao se contemplar os operários da refinaria de óleo de soja foi impossível uma pesquisa aleatória pois, o próprio departamento de pessoal orientou aos sintomáticos que procurassem colaborar, para dirimir dúvidas quanto à natureza das manifestações respiratórias. No grupo dos caminhoneiros, encontrou-se grande dificuldade de abordagem por ser população itinerante e que disponibiliza pouco tempo para entrevistas e outros procedimentos. Nos municípios percorridos, o próprio fato de ser

divulgada a presença de pesquisadores na cidade, já faz com que a amostragem sofra algum viés na convocação. Por esses motivos, não foi estabelecido como objetivo a medida de prevalência de sintomatologia. Optou-se por correlacionar exposição, uma vez que todos apresentavam essa característica, com sensibilização.

Tal como foi enfatizado na introdução, em nosso País, a Embrapa Soja tem se destacado como locomotiva no avanço do setor agrícola. Entretanto, o desenvolvimento de extensas monoculturas, vem acarretando prejuízos não apenas para o solo e o meio ambiente, como também para a saúde pública. A implementação de novas técnicas, seja para aumento da safra, seja para aperfeiçoamento das espécies de grãos, deveria ser norteadas pela estrita observância do impacto sobre a saúde pública com o surgimento de enfermidades de cunho ocupacional e para-ocupacional conseqüente à poluição atmosférica por biomassa.

Ainda que tenha fugido ao escopo da pesquisa, é imperioso que sejam tomadas todas as precauções no sentido de avaliar, em um futuro não muito distante, as conseqüências da mudança da microbiota fúngica e do espectro protéico, que certamente ocorrerá, com a utilização em larga escala, do cultivo da soja transgênica em território nacional.

Codina et al.(2004), ao investigarem comunidades expostas a poeira da soja na Argentina, empregaram desenho semelhante a este estudo, porém foi utilizada metodologia diferente, que poderia interferir nos resultados. Apesar de questionário padronizado, este foi aplicado em diversos postos de saúde, por profissionais radicados nos mesmos. Da

mesma maneira, os testes cutâneos, também foram realizados e interpretados por vários pesquisadores. Embora, todos esses procedimentos obedecem a critérios predeterminados alguns resultados poderiam sofrer algum tipo de viés e acredita-se que os mesmos profissionais devem compor a equipe com o intuito de uniformizar melhor a pesquisa, apesar de se tornar um processo mais laborioso.

É imprescindível tecer alguns comentários a respeito de como se desenrolou a pesquisa, uma vez que o seu andamento teve íntima relação com o ambiente de trabalho dos operários, dos caminhoneiros e com os hábitos culturais da população radicada em áreas produtoras de soja.

Observa-se no meio fabril uma grande preocupação com a proteção geral e individual. Os setores da produção, em sua maioria, são totalmente automatizados e os operários quase nunca entram em contato direto com os materiais ou com os vapores emanados de sua cocção. Nos pátios dos caminhoneiros entretanto, observou-se a dura jornada a que esses são submetidos e a ausência de assistência médica, que não cabe à empresa, já que não é de sua alçada essa diligência. Talvez, fosse inclusive um motivo de uma tese sociológica, sobre o “modus vivendi” desta classe, que sobrevive às agruras das estradas, das intempéries, da má nutrição e da desinformação em geral (Pinto et al., 2002). No meio rural, identifica-se um baixo nível de informação básica sobre cuidados primários com a saúde. Provavelmente, essa diversidade entre esses três segmentos, tenha influência no desenvolvimento de sensibilização à poeira da soja.

Contra-pondo-se aos estudos de Roodt e Rees (1995), na presente pesquisa, houve correlação entre exposição, sensibilização e sintomatologia ou seja: indivíduos sensibilizados à poeira da soja, apresentaram diferenças significativas em relação aos controles, exibindo com muito mais frequência sintomatologia respiratória.

A exemplo do que foi encontrado no estudo da alergia respiratória decorrente da exposição à ração feita com bagaço da laranja (péletes), ao se estudar operários de uma indústria citrícola, na presente pesquisa houve intensa sensibilização aos fungos, quando comparados aos grupos controles e a prevalência na população em geral (Figura 2 e Figura 4). Torna-se plausível que pessoas que convivam em meio à poeira de matérias orgânicas apresentem tal quadro em função da colonização maciça destas por fungos. Como anteriormente mencionado foi constatada colonização por fungos anemófilos em 80% das amostras de soja, recolhidas no decorrer do estudo. Isto veio corroborar os achados de diversos autores no que tange a proliferação fúngica em grãos estocados (Farant et al., 1978) como também no caso específico da soja (Codina et al., 1998).

Ao se comparar os resultados dos diferentes segmentos da cidade de Mairinque, quais sejam operários da Cargill, caminhoneiros, população circunvizinha e distante a 18 Km, encontra-se algumas diferenças significativas como se pode deduzir das Figuras 3 e 4. Observa-se moderada sensibilização no interior da indústria decorrente da pouca exposição.

Realmente, devido às medidas de controle de poluentes aliados aos equipamentos de proteção individual, utilizados por todos os trabalhadores da indústria, a sua exposição é sensivelmente minimizada. Adita-se a esses fatores os processos de esterilização e de cozimento da soja em altas temperaturas, que provavelmente, desnaturam os complexos protéicos, tornando-os de baixo potencial antigênico. A presença de grande quantidade de sintomáticos, cerca de 25%, na indústria investigada, talvez possa ser em parte atribuída a irritação primária por componentes químicos do próprio óleo de soja, conforme sugerem Zuskin et al (1991).

Caminhoneiros apresentam alta prevalência de sintomatologia respiratória, como demonstrado naqueles que transportam ração da laranja (Pinto et al, 2003). No presente enfoque, como se nota na Figura 6, um terço destes relatou sintomas apenas ao transportarem a soja. Na Tabela 5 e na Figura 7 a interpretação dos resultados leva a crer que, sua sintomatologia deva-se muito mais a uma sensibilização múltipla aos fungos que colonizam esses grãos (17%), aos ácaros de estocagem (43%) e à própria soja (22%). Em indivíduos que apresentam sintomas em quaisquer ambientes (aos quais denominamos como inespecíficos), não houve sensibilização à soja e os ácaros predominam. Conclui-se que esse grupo de sintomáticos difere plenamente daqueles que só apresentam sintomas quando expostos à soja, são indivíduos atópicos com grande sensibilização aos ácaros (Figura 9).

Admiti-se que comunidades expostas à soja armazenada (operários e caminhoneiros), tal qual acontece em silos e em caçambas transportadoras, desenvolvam alergia respiratória tanto aos contaminantes

desses grãos quanto ao próprio substrato antigênico da soja em face da alta prevalência de testes de punctura positivos para ambos (Figura 4).

Relevantemente, repara-se que, caminhoneiros com sintomatologia desencadeada somente ao transportar soja, apresentam moderada sensibilização aos fungos e à soja. Aqueles que apresentam sintomas – tosse, espirros, chiado – independente do meio, em sua grande maioria reagem aos ácaros (Figura 9).

Caminhoneiros que apresentam sintomas apenas ao entrarem em contato com a soja mostram com mais definição a implicação deste fator como desencadeante de seus sintomas respiratórios pois se encontra entre estes sensibilização à poeira da soja de 18 % entre os sintomáticos e 2% entre os assintomáticos.

No entorno do meio fabril verificamos que moradores da cidade de Mairinque, apresentaram 22% de reações positivas a soja. É natural que, ao estarem expostos constantemente a esses aerodispersíveis, paulatinamente, desenvolvam reações IgE mediadas. Acrescente-se ainda que, nesse meio, os fungos contribuem com 35% das reações. A percepção dos comentários aludidos anteriormente é mais bem aferida ao se observar a Figura 11.

Testes cutâneos positivos para soja foram mais pronunciadas em moradores sintomáticos circunvizinhos do que naqueles que distam dezoito quilômetros da Cargill (Figura 13). Essa comunidade residente em um condomínio chamado Portal do Sol auxiliou na interpretação dos dados,

servindo como grupo controle de populações não expostas, ou ainda, discretamente expostas à poeira de soja.

A fim de aferir o real teor de poluentes emanados da soja, seria necessária a medição do material particulado presente na atmosfera dessas localidades (Rodrigo, 2004).

Decidiu-se posteriormente avaliar populações expostas, residentes em áreas rurais, que entram em contato com a soja, ainda sem a casca e que estão sujeitas à poeira oriunda das colhedeiras que em meio às plantações debulham as vagens.

Na cidade de Iporá, situada ao oeste de Goiás, cuja cultura da soja ainda era incipiente, identifica-se uma população identificada como medianamente exposta à poeira da soja. Nesse município, percebeu-se que mesmo a quase 140 Km da grande concentração de lavoura de soja, já se encontram indícios de que a sua dispersão atmosférica, pode resultar em sensibilização, com deflagração de sintomas de alergia respiratória, uma vez que 13% dos munícipes sintomáticos exibiram testes cutâneos positivos para soja (Figura 14).

Paripassu, foram eleitas duas outras cidades, Montividiu e Bom Jesus, com economias totalmente calcadas na lavoura sojeira.

Em Montividiu, obteve-se 169 voluntários sintomáticos que surpreendentemente apresentaram 23% (Figura 15 e 19) dos testes de punctura positivos à soja, quanto mais se comparados ao grupo controle que totalizou 4% (Figura 18).

Cumprir relatar que dentre esses sintomáticos 17% apresentaram reações somente à soja (Figura 16), perfazendo 5% da população estudada de sintomáticos.

Na Figura 17 nota-se a participação dos fungos como sensibilizadores nos sintomáticos não reatores à soja (19%), reforçando a premissa, sobre o seu papel no meio agrícola ao colonizar matérias orgânicas. Entretanto, é mais prudente, não imputar essas reações somente à lavoura de soja, uma vez que é quase impossível excluir outros fatores, que contribuam para esse fenômeno, tais como: influências climáticas, dispersão influenciada pelos ventos e a presença de outras culturas agrícolas menos expressivas na região.

Na última etapa, na cidade de Bom Jesus, os esforços foram coroados com dados ainda mais exuberantes. Surpreendentemente, em 33 sintomáticos, 33% apresentam sensibilização à soja (Figura 20).

Enfatiza-se que essas populações rurais de Montividiu e Bom Jesus acham-se circundadas por um verdadeiro cinturão de soja. Apesar de não ter sido o objetivo do trabalho, aferir a prevalência de quadros respiratórios nessas localidades, suscita curiosidade, a grande afluência de um enorme contingente de voluntários nos três dias de visita a estes municípios.

Na Figura 21 observa-se a correlação entre testes cutâneos positivos e IgE sérica específica reagente, ambos à soja. Conquanto as determinações séricas sofram diversas influências, particularmente no que tange a menor vida média em relação a IgE tecidual e sobretudo à

competitividade pela IgG4 muitas vezes presente, os valores encontrados não podem ser desconsiderados.

Acredita-se não ser aconselhável supervalorizar essas dosagens séricas em detrimento dos testes cutâneos. Esses, são utilizados há vários anos como método auxiliar no diagnóstico etiológico das doenças atópicas. São de fácil execução e de boa reprodutibilidade, têm alta sensibilidade e especificidade, além de representarem exame de baixo custo quando comparados com os métodos laboratoriais (Spector e Nicklas, 1995). O uso de apenas testes cutâneos já seria o suficiente, a exemplo de recente estudo multicêntrico, no qual Morisset et al. em 2005, estimaram a prevalência de sensibilização a amendoim na França e em algumas localidades de países vizinhos. Tal inquérito epidemiológico empreendido por 84 alergologistas utilizou somente a aplicação de testes cutâneos de leitura imediata.

Codina et al. (2004) relatam prevalência de 58% de positividade de IgE específica para soja, o que faz refletir em face de valores tão altos. No presente estudo talvez tenha havido um subdimensionamento das dosagens de IgE em razão dos antígenos testados. Com efeito, existem diversos peptídeos potencialmente alergênicos, classificados como maiores e menores, aos quais não se pode verificar a sensibilização. Por outro lado, existe a possibilidade de variedades de soja na Argentina serem diferentes, e seu espectro antigênico estimular sobremaneira a resposta imunológica. Esses autores estudaram dez variedades de soja em seu país, encontrando semelhanças antigênica entre as mesmas, porém tal estudo não foi

realizado com as cultivares de soja encontrada em nosso território (Codina et al., 2003). Em última análise, seria necessário comparar os complexos de histocompatibilidade dessas populações que, certamente, determina uma maior ou menor resposta a esses tipos de antígenos (Soriano,1997).

Quanto à mortalidade, não encontramos relatos de casos fatais, que possam com certeza ser imputados à exposição ao pó da soja, tal qual relatados em surtos epidêmicos na Espanha (Synek,1996). Em uma região rural, do Município de Luziania (Go), ao ser visitado um grande distribuidor, houve menção de óbito recente, de um dos donos da empresa que sofreu parada cardio-respiratória, após alguns minutos em que havia saído de um silo com soja. Infelizmente, não houve como precisar a “causa mortis”, porém há necessidade de que as autoridades sanitárias estejam conscientes e eduquem os profissionais de saúde, a fim de que seja arrolada essa possibilidade, ao se depararem com casos semelhantes.

Nos países onde hão relatos de surtos comunitários de asma por poeira de soja inalada muito se tem investido no controle da emissão desses poluentes. Diversos procedimentos se têm adotado, para proteger os indivíduos expostos, desde instalação de filtros para conter a emissão de aerodispersíveis até o seguimento longitudinal das pessoas afetadas com o intuito de monitorar quaisquer agravamento ou dano físico permanente que possa comprometer a função ventilatória das mesmas (Anto,1999). No Brasil, pouco ainda se conhece a respeito de tal entidade.

Seria necessário que se agisse preventivamente, avaliando-se os riscos de surtos epidêmicos. Num futuro próximo, poder-se-ia visitar as

localidades mais atingidas na Europa, a fim de apreender as medidas de vigilância sanitária que foram implementadas. Talvez assim, se possa colaborar mais efetivamente com a elaboração de um programa eficaz, para minimizar o impacto epidemiológico da dispersão da poeira de soja no desencadeamento de alergia respiratória, no Brasil.

6 - CONCLUSÕES

6 - CONCLUSÕES

- 6.1 Trabalhadores da indústria Cargill de Mairinque, a despeito dos equipamentos de proteção, apresentam sensibilização à soja (15%).
- 6.2 Moradores vizinhos à refinaria de óleo de soja também apresentam risco de sensibilização (22%).
- 6.3 Comunidades medianamente expostas, apresentam baixo risco de sensibilização à soja porém não em caráter desprezível (13%).
- 6.4 Em regiões cuja lavoura da soja é o carro chefe da economia, existe sensibilização significativa (28%).
- 6.5 Quadros clínicos de alergia respiratória podem estar sendo desencadeados unicamente por sensibilização à soja (5% de monossensibilizados)
- 6.6 A alta prevalência de positividade aos testes de punctura para fungos sugere que estes são co-responsáveis pela sensibilização dos indivíduos expostos à poeira da soja.

ANEXO I

MÉTODOS E TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

Semeadura

Após colocar 1 g de soja em 10ml de solução fisiológica estéril, homogeneizar e após sedimentar, semear 0,1ml do sobrenadante em uma placa de ágar Sabouraud + cloranfenicol. Incubar a temperatura ambiente (25/30°C) e fazer a observação após 48 hs, 72 hs e até 7 dias.

Isolamento e Identificação

Após isolamento dos fungos é feita a identificação através da morfologia macroscópica e microscópica.

Estudo macroscópico da colônia do fungo

Para identificação macroscópica dos fungos nas placas de Petri adota-se a classificação de Barnett e Hunter (1998).

Colônia gigante e cultivo em lâmina

A macrocolônia permite avaliar a velocidade de crescimento do fungo, o diâmetro alcançado, perfil e bordas, textura, coloração do verso e reverso, formação ou não de pigmento difuso no meio de cultivo e o odor.

A observação e a mensuração da colônia (geralmente ao final de 14 a 15 dias) é realizada a olho nu. O exame complementar ao microscópio estereoscópico permite detectar a real textura do fungo e a presença ou não de exsudato.

Material necessário

Placa de Petri esterilizada

Ágar-Sabouraud em volumes de 15 ml, em tubos de ensaio.

Culturas puras de fungos ou de actinomicetos aeróbios.

Técnica

- a) Após liquefação do meio de cultivo em banho-maria, verter o conteúdo do tubo em placa de Petri e deixar solidificar.
- b) Semear com os cuidados de assepsia, no centro da superfície de ágar-Sabouraud, pequena porção da cultura, que deve ficar bem aderida ao meio e não se desprender ao inverter-se a placa.
- c) Vedar a placa com fita adesiva (Durex), para impedir a penetração de esporos do ar.
- d) Deixar a placa em posição invertida, à temperatura ambiente

e geralmente na presença de luz natural, para que ocorra o desenvolvimento da colônia. Após o desenvolvimento e mensuração do diâmetro da colônia, com a finalidade de obter culturas permanentes para o mostruário, submete-se a mesma a vapores de formol a 40%.

Cuidados:

O exame das macrocolônias durante o seu desenvolvimento deve ser feito sem inverter as placas da posição que estão sendo incubadas, a fim de evitar a formação de colônias satélites (conseqüentes à germinação dos esporos), que prejudicam o pleno desenvolvimento da colônia central.

Cultivo em lâmina, para fungos filamentosos (Microcultivo)

Método de Riddell (1950)

O cultivo em lâmina permite demonstrar, ao exame microscópico, a morfologia dos fungos, tornando possível a visualização correta de suas estruturas, como as características das hifas, conidióforos, esporos, etc.

O método de Riddell (1950) permite a obtenção de lâminas permanentes, as quais permanecem inalteradas por longo período de tempo.

Material

Placas de Petri

Papel de filtro com igual diâmetro da placa de Petri

Tubos de vidro encurvados em forma de U

Pinça de dissecação

Espátula ou bisturi

Lâminas e lamínulas para microscopia

Agulha de platina

Tubos de ensaio com 5 ml de água destilada glicerinada a 5%.

Tubos de ensaio com 15ml de ágar-batata .

Culturas puras de fungos.

Preparo das placas de Petri para o cultivo em lâmina

As placas são montadas para posterior esterilização, conforme itens a seguir relacionados:

- a) Forrar o fundo das placas com papel de filtro.
- b) Introduzir em cada placa, um bastão de vidro encurvado em forma de U, uma lâmina e uma lamínula de microscopia.
- c) Esterilizar em forno de Pasteur.

Técnica

- a) Liquefazer o ágar-batata em banho-maria.

Em placa de Petri esterilizada, verter 15ml do meio de cultivo liqüefeito, deixando-o solidificar. Cortar o meio já solidificado em pequenas porções de 1cm², com auxílio de pequena espátula ou bisturi, previamente flambada, e em número suficiente para os cultivos das amostras.

- b) Com o próprio bisturi ou espátula, transferir as porções do meio de cultivo, para a superfície central da lâmina de microscopia, disposta sobre o bastão de vidro.

- c) Semear esporos ou pequenos fragmentos de micélio nos quatro lados da porção do meio de cultivo, cobrindo-a com a lamínula, com o auxílio de pinça previamente flambada.

- d) Umedecer o papel de filtro da placa com a água glicerinada.

- e) Incubar à temperatura ambiente.

- f) Controlar, pelo exame microscópico, se há suficiente desenvolvimento dos micélios e esporulação do fungo.

- g) Remover a lamínula do cultivo e a porção de ágar-batata, com o auxílio de estilete ou bisturi.

- h) Colocar uma gota de azul algodão lacto-fenol ("Cotton blue"= Azul de Poirrier), no centro de uma lâmina de microscopia e cobrir com a lamínula, evitando-se a formação de bolhas de ar.
- i) De modo semelhante, cobrir com lamínula limpa, o cultivo do fungo obtido sobre a lâmina, de acordo com o item anterior.
- j) Vedar com esmalte de unha as bordas da lamínula.
- k) Examinar o cultivo ao microscópio.

ANEXO II

CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Você está colaborando voluntariamente, ou seja: ajudando em um projeto de pesquisa por sua própria vontade. Esta pesquisa é para ver se a aspiração da poeira de soja pode dar alergia em alguém. Este trabalho não vai lhe prejudicar, uma vez que qualquer resultado só vai ajudar para que se tomem cuidados e evitar que pessoas alérgicas continuem em contato com a poeira da soja. Faremos um teste alérgico no seu braço com material esterilizado, de plástico, que só será usado em você e depois jogado fora. Colocaremos algumas gotas em seu braço e com lancetas de aço inoxidável faremos furinhos muito pequenos para permitir que as substâncias das gotas penetrem em sua pele. Cada gota contém um tipo de substância misturada em água, várias vezes, para ficar bem fraca. São substâncias que existem na própria soja, tais como: mofos, restos de ácaros muito pequenos que só são vistos ao microscópio e produtos da própria soja. Limparemos com um algodão o seu braço e esperamos 15 minutos para vermos se ficou algum ponto vermelho (tipo picada de pernilongo) que significará alergia à substância presente naquela gota. Esses pontos vermelhos desaparecerão rapidamente. Em alguns indivíduos mais alérgicos faremos introdução dessas substâncias embaixo da pele (injeção intradérmica) e após 4 horas

verificaremos se houve alguma reação tardia. Você poderá ter alguma reação alérgica o que é muito raro, tais como: espirro, tosse, chiado no peito, coceira no corpo e, raramente, queda de pressão. Colheremos também 8 ml de sangue de uma veia do seu braço para examinar o soro e comprovar se realmente você tem alguma alergia que o teste revelou.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente protocolo de pesquisa.

São Paulo,   de   de 2004

ANEXO III**QUESTIONÁRIO ISAAC MODIFICADO, GAGETE E.M.(2005)**

FICHA N°

Pesquisa: ALERGIA À POEIRA DA SOJA

QUESTIONÁRIO SOBRE PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS

Nome: _____
_____

Sexo: _____

Meio: URBANO (   )   RURAL (   )

Endereço: _____
_____

Idade: _____

Procedência: _____ Telefone: _____

1 - Há quanto tempo você mora nessa cidade ou região?

(   ) < 4 meses.

(   ) mais do que 4 meses.

2 - Você fuma?

(   ) Não

(   ) Sim. Quantos cigarros por dia? _____ cigarros por dia, há _____ anos.

Você já fumou alguma vez?

(   ) Nunca

(   ) Sim, _____ cigarros / dia, há _____ anos.

(   ) Sim, mas parei há mais de 10 anos

3 - Você usualmente se alimenta com soja ou derivados?

Em caso positivo, já apresentou algum tipo de alergia ou intolerância?

4 - Você já teve períodos ou episódios de tosse ou catarro durante semanas ou mais a cada ano?

( ) Sim ( ) Não

5 - Você sente ocasionalmente chiados ou assobios no seu peito fora os resfriados?

( ) Sim ( ) Não

6 - Alguma vez você já teve uma crise de chiado no peito que o/a fez ficar com falta de ar?

( ) Sim ( ) Não

7 - Alguma vez o médico já disse que você tem (deu o diagnóstico de) asma ou bronquite asmática?

( ) Sim ( ) Não

8 - Nos últimos quatro meses você sentiu coceira no nariz, espirros seguidos, nariz entupido ou nariz escorrendo, fora os resfriados?

( ) Sim ( ) Não

9 - Caso tenha respondido sim na pergunta anterior, este problema nasal costuma vir acompanhado de lacrimejamento e coceira nos olhos?

( ) Sim ( ) Não

10- Alguma vez o médico já disse que você tem (deu o diagnóstico de) rinite alérgica?

( ) Sim ( ) Não

11- Você costuma ter muitos resfriados?

( ) Sim, cerca de _____ por ano ( ) Não, menos de 3 por ano

12- Você teve algum sintoma de sinusite (dor de cabeça e catarro do nariz escuro) nos últimos doze meses?

☐ Sim   ☐ Não

13 - Alguém na sua família tem alergia tipo bronquite asmática, rinite ou conjuntivite alérgica?

☐ Sim   ☐ Não

14 - Você sente mais os sintomas

☐ Em casa   ☐ No trabalho   ☐ Não faz diferença

15   Você utilizou algum tipo de medicação nas últimas 72 horas?

☐ Sim   ☐ Não

Quais?

E nos últimos quinze dias?

☐ Sim   ☐ Não

8 - REFERÊNCIAS

8 - REFERÊNCIAS

Aceves M, Grimalt JO, Sunyer J, Anto JM, Reed CE. Identification of soybean dust as an epidemic asthma agent in Urban areas by molecular marker and RAST analysis of aerosols. *J Allergy Clin Immunol*. 1991;88(1):124-34.

Agata H, Kondo N, Eukutomi O, Hayashi T, Shinoda S, Nishida T, Yomo A, Suzuki Y, Shimozawa N, Tomatsu S. Comparison of allergic diseases and specific IgE antibodies in different parts of Japan. *Allergy*. 1994;72(5):447-51.

Alonso E, Ausin A, Elices A, Moreno-Escobosa M, Ibanez M, Laso M. Baker's asthma in a child. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2001;29(4):141-3.

Anto JM. Asthma outbreaks: an opportunity for research? *Thorax*. 1995;50(3):220-2.

Anto JM, Soriano JB, Sunyer J, Rodrigo MJ, Morell F, Roca J, Rodriguez-Riosin R, Swanson MC. Long term outcome of soybean epidemic asthma after an allergen reduction intervention. *Thorax*. 1999;54(8):670-4.

Anto JM, Sunyer J, Reed CE, Sabria J, Martinez F, Morell F, Codina R, Rodriguez-Riosin R, Rodrigo MJ, Roca J, Saez M. Preventing asthma epidemics due to soybeans by dust-control measures. *N Engl J Med*. 1993;329(24):1760-3.

Anto JM, Sunyer J, Rodriguez-Riosin R, Suarez-Cervera M, Vazquez L. Community outbreaks of asthma associated with inhalation of soybean dust. Toxico epidemiological committee. *N Engl J Med*. 1989;320(17):1097-102.

Ardusso LR, Crisci CD, Codina R, Lockey RF, Galimany J, Marcipar A, Massara A, Strass M, Arduoso DD, Bertoya NI, Medina I, Trojavchich MC, Vinuesa MA, Monje S. Association between soybean dust exposure, allergic sensitivity and profile of respiratory symptoms. *Medicina (B Aires)*. 2001;61(1):1-7.

Baggio D, Ambrozio LC, Antilla MA. Ácaros ambientais e as manifestações alérgicas. *Rev. bras. Allerg. imunopatol*. 1993; 12: 56-68.

Ballester F, Soriano JB, Otero I, Rivera ML, Sunyer J, Merelles A, Vereá H, Marin J, Anto JM. Asthma visits to emergency rooms and soybean unloading in

the harbors of Valencia and La Coruna, Spain. *Am J Epidemiol*. 1999;149(4):315-22.

Barnett HL, Hunter BB. Illustrated genera of imperfect fungi. *APS Press*. 1998; 4th: 218.

Bauchau V, Durham SR. Epidemiological characterization of the intermittent and persistent types of allergic rhinitis. *Allergy*. 2005;60(3):350-3.

Bruno G, Milita O, Ferrara M, Nisini R, Cantani A, Businco L. Prevention of atopic diseases in high risk babies (long-term follow-up). *Allergy Proc*. 1993;14(3):181-6.

Bush RK, Cohen M. Immediate and late onset asthma from occupational exposure to soybean dust. *Clin Allergy*. 1977;7(4):369-73.

Casimir GJ, Duchateau J, Gossart B, Cuvelier P, Vandaele F, Vis HL. Atopic dermatitis: role of food and house dust mite allergens. *Pediatrics*. 1993;92(2):252-6.

Codina R, Arduoso L, Lockey RF, Crisci CD, Bertoya NH. Sensitization to soybean hull allergens in subjects exposed to different levels of soybean dust inhalation in Argentina. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(3):570-6.

Codina R, Arduoso L, Lockey RF, Crisci CD, Jaen C, Bertoya NH. Identification of the soybean hull allergens involved in sensitization to soybean dust in a rural population from Argentina and N-terminal sequence of a major 50 KD allergen. *Clin Exp Allergy*. 2002;32(7):1059-63.

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisas. *A soja no Brasil* [citado 28 dez. 2005]. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br>.

Falleroni AE, Zeiss CR. Bean bag allergy revisited: a case of allergy to inhaled soybean dust. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1996;77(4):298-302.

Ferrer A, Torres A, Roca J, Sunyer J, Anto JM, Rodriguez-Roisin R. Characteristics of patients with Soybean dust-induced acute severe asthma

requiring mechanical ventilation. *Eur Respir J*. 1990;3(4):429-33. Erratum in: *Eur Respir J*. 1990;3(7):846.

Garcia-Ortega P, Rovira E, Bartolome B, Martinez A, Mora E, Richart C. Outbreak of asthma caused by soybean dust allergy. Clinical and immunologic study of the affected patients. *Med Clin (Barc)*. 1998;110(19):731-5. Erratum in: *Med Clin (Barc)*. 1998;111(17):662.

Gonzalez R, Polo F, Zapatero L, Caravaca F, Carreira J. Purification and characterization of major inhalant allergens from soybean hulls. *Clin Exp Allergy*. 1992;22(8):748-55.

Gonzalez R, Polo F, Zapatero L, Caravaca F, Carreira J. Identification of soybean proteins responsible for respiratory allergies. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;95(1):53-7.

Haliwell Re, Fleischman JB, MacKay-Smith M, Beech J, Gunson DE. The role of allergy in chronic pulmonary disease of horses. *J Am Vet Med Assoc*. 1979;174(3):277-81.

Hernando L, Navarro C, Marquez M, Zapatero L, Galvan F. Asthma epidemics and soybean in Cartagena (Spain). *Lancet*. 1989;1(8636):502.

Immunological and respiratory changes in soy bean workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 1991;63(1):15-20.

Iwasaki E, Baba M. Classification of allergens by positive percentage agreement and cluster analysis based on specific IgE antibodies in asthmatic children. *Arerugi*. 1992;41(10):1449-58.

Koya N, Suzuki S, Hara M, Tateno A, Saito S, Nakazato E, Alvarez-Dadert C, Belda J, Pena M, Nolasco M.. Outbreak of asthma associated with soybean dust. *N Engl J Med*. 1989;321(16):1127-8.

Maggio P, Monso P, Monso E, Baltasar M, Morera J. Occupational asthma caused by soybean hull: a workplace equivalent to epidemic asthma. *Allergy*. 2003;58(4):350-1.

Morell F, Codina R, Rodrigo MJ, Sunyer J, Anto JM, Reed CE. Diagnosis of soybean induced asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96(3):320-4.

Nagata K. Clinical research of specific IgE and IgG4 antibody in allergic children. Examination by multiple factor analysis-type II. (objective variables: specific IgE antibodies and IgG4 antibodies to food allergen). *Arerugi*. 1989;38(5):391-406.

Nishioka K, Yasueda H, Saito H. Preventive effect of bedding encasement with microfine fibers on mite sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101(1 Pt 1):28-32.

Ogawa A, Samoto M, Takahashi K. Soybean allergens and hypoallergenic soybean products. *J Nutr Sci Vitaminol* (Tokyo). 2000;46(6):271-9.

Openshaw P. Barcelona's asthma epidemics. *Thorax*. 1992;47(8):668.

Peters GA. Bronchial asthma due to soybean allergy: report of a case with audiovisual documentation. *Ann Allergy*. 1965;23:270-2.

Pinto RJC. *Fungos em péletes de laranja e alergia respiratória em trabalhadores da indústria citrícola* (dissertação). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2002

Picado C. Barcelona's asthma epidemics: clinical aspects and intriguing findings. *Thorax*. 1992;47(3):197-200.

Pont F, Gispert X, Canete C, Pinto E, Dot D, Monteis J. An epidemic of asthma caused by soybean in L'Hospitalet e Llobregat (Barcelona). *Arch Bronconeumol*. 1997;33(9):453-6.

Quirce S, Polo F, Figueiredo E, Gonzalez R, Sastre J. Occupational asthma caused by soybean flour in bakers--differences with soybean-induced epidemic asthma. *Clin Exp Allergy*. 2000;30(6):839-46.

Rodrigo MJ, Cruz MJ, Garcia MD, Anto JM, Genover T, Morell F. Epidemic asthma in Barcelona: an evaluation of new strategies for the control of soybean dust emission. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004;134(2):158-64.

Rodrigo MJ, Morell F, Helm RM, Swanson M, Greife A, Anto JM, Sunyer J, Reed CE. Identification and partial characterization of the soybean-dust allergens involved in the Barcelona asthma epidemic. *J Allergy Clin Immunol*. 1990;85(4):778-84.

Roodt L, Rees D. Tests for sensitisation in occupational medicine practice the soybean example. *S Afr Med J*. 1995;85(6):522-5.

Sabria J, Anto JM, Sunyer J, Roca J, Morell F, Rodruiguez-Roisin R, Rodrigo MJ, Codina R. Clinical and functional characteristics of patients two years after being affected by the soybean asthma epidemic in Barcelona. *Thorax*. 1994;49(9):906-9.

Soriano JB, Anto JM, Plasencia A. Repeaters count: a sentinel method for asthma outbreaks. Barcelona Soybean Asthma Group. *Thorax*. 1995;50(10):1101-3.

Soriano JB, Ercilla G, Sunyer J, Real FX, Lazaro C, Rodrigo MJ, Estivill X, Roca J, Rodriguez-Roisin R, Morell F, Anto JM. HLA class II genes in soybean epidemic asthma patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156(5):1394-8.

Sasamoto A, Saito S, Uchiyama H, Kishida M, Tago H, Koya N, Matumoto H, Koshibu T, Iikura Y. IgE.IgG4 Antibody in eczema in infants between 5-7 months of age. I Relationship to the degree of eczema involvement. *Arerugi*. 1991;40(10):1310-9.

Schachter EN. Occupational airway diseases. *Mt Sinai J Med*. 1991;58(6):483-93.

Spector SL, Nicklas RA. Practico parameters for the diagnosis and treatment of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96(5 Pt 2):732-48.

Sunyer J, Anto JM. Asthma epidemics in Barcelona. *Aten Primaria*. 1991;8(11):915-6.

Sunyer J, Anto JM, Rodrigo MJ, Morell F. Case-control study of serum immunoglobulin - E antibodies reactive with soybean in epidemic asthma. *Lancet*. 1989;1(8631):179-82.

Sunyer J, Anto JM, Sabria J, Rodrigo MJ, Roca J, Morell F, Rodriguez-Roisin R, Codina R. Risk factors of soybean epidemic asthma. The role of smoking and atopy. *Am Rev Respir Dis*. 1992;145(5):1098-102.

Swanson MC, Li JT, Wentz-Murtha PE, Trudeau WL, Fernandez-Caldas E, Greife A, Rodrigo MA, Morell F, Reed CE. Source of the aeroallergen of soy bean dust: a low molecular mass glycopeptide from the soybean tela. *J Allergy Clin Immunol*. 1991;87(4):783-8.

Synek M, Anto JM, Beasley R, Frew AJ, Holloway L, Lampe FC, Lioreta JL, Sunyer J, Thorton A, Holgate ST. Immunopathology of fatal soybean dust-induced asthma. *Eur Respir J*. 1996;9(1):54-7.

White MC, Etzel RA, Olson DR, Goldstein IF. Reexamination of epidemic asthma in New Orleans, Louisiana, in relation to the presence of soy at the harbor. *Am J Epidemiol*. 1997;145(5):432-8.