

ROSÂNGELA DE MELO QUEIROZ



**DIÂMETRO MÉDIO DA CICATRIZ DE BCG EM CRIANÇAS
E ADOLESCENTES ASMÁTICOS**



RECIFE

2002

ROSÂNGELA DE MELO QUEIROZ

**DIÂMETRO MÉDIO DA CICATRIZ DE BCG EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES ASMÁTICOS**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Curso de Mestrado em Pediatria do Departamento Materno Infantil do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Pediatria.

Orientadora: Prof^a Dra. Sílvia Wanick Sarinho

Co-orientador: Prof. Emanuel Sávio Cavalcante Sarinho

RECIFE

2002

Queiroz, Rosângela de Melo
Diâmetro médio da cicatriz de BCG em crianças e
adolescentes asmáticos / Rosângela de Melo Quei-roz . –
Recife : O Autor, 2002.
xi, 79 folhas : tab., gráf.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Pediatria, 2002.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Pediatria - Asma - Crianças e adolescentes. 2. BCG -
Diâmetro da cicatriz. 3. Teste tuberculínico. I. Título.

616.248
616.238

CDU (2.ed.)
CDD (21.ed.)

UFPE
BC2002-160

Às vezes sentimos que o que fazemos é tão somente uma gota no mar, mas o mar estaria incompleto se lhe faltasse uma gota.

Madre Teresa de Calcutá

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Eli e Rosilda, pelo amor incondicional, incentivo e apoio em todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua presença constante na minha vida, concedendo-me forças para vencer todos os obstáculos na conquista deste ideal.

À professora Sílvia Sarinho, pela orientação, amizade, valiosas sugestões e atenção dispensada.

Ao professor Emanuel Sarinho, por seus ensinamentos em Alergia e Imunologia, pela idéia da linha de pesquisa desta dissertação e pela orientação dispensada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Ricardo Ximenes, por sua disponibilidade em solucionar dúvidas e pela valiosa colaboração.

Às coordenadoras do mestrado Gisélia Alves e Marília Lima por suas pertinentes sugestões.

Ao professor José Angelo Rizzo pela contribuição na pré-banca.

Aos meus irmãos, Carlos Márcio, Sérgio Ricardo e Taciana, pelo carinho e amizade. A Sérgio Ricardo e Taciana, em especial, pela formatação final deste trabalho e auxílio na elaboração do *abstract*.

À Isabella Londres, querida amiga e colega de mestrado, por termos compartilhado juntas todas as etapas (alegrias e dificuldades) durante esta caminhada. Obrigada pelo carinho, apoio e amizade.

Aos colegas da turma de mestrado: Anísio Veloso, Gladys Queiroz, Ozanil Cursino e Vera Vasconcelos, pelo agradável convívio.

Aos colegas pediatras e secretárias do Serviço de Pronto-atendimento em Pediatria do HC-UFPE pela contribuição prestada durante a fase de coleta dos dados.

À Lucinda, à Marleide, à Nice e à Zita do Ambulatório de Pediatria do HC-UFPE pela compreensão e ajuda durante a fase de coleta dos dados.

À diretora da Unidade de Pediatria Helena Moura, Lúcia Helena Amorim e à colega pediatra Edjane Burity, pela receptividade e colaboração.

Aos tios Eliezer e Regina pelo estímulo ao meu crescimento como profissional.

A Paulo Sérgio Nascimento, pela assistência prestada no decorrer do curso.

À Mecciene Lins pelo incentivo durante este trajeto.

À Marlene Praxedes pela estima e incentivo a minha carreira profissional.

À Vânia Agripino pela cooperação na troca de plantões.

Às diretoras da Policlínica Arnaldo Marques: Nilce Falcão e Terezinha Honci, pelas concessões na fase de conclusão deste trabalho.

A IPI - ASAC do Brasil pela doação dos extratos alergênicos.

À Secretaria de Saúde de Pernambuco pela doação do PPD.

Aos pais, crianças e adolescentes que participaram desta pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE GRÁFICO.....	VIII
LISTA DE TABELAS	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT	XI
<u>1. INTRODUÇÃO.....</u>	<u>1</u>
<u>2. HIPÓTESE.....</u>	<u>5</u>
<u>3. OBJETIVOS</u>	<u>5</u>
3.1. OBJETIVO GERAL.....	5
3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	5
3.3. OBJETIVO SECUNDÁRIO.....	5
<u>4. REVISÃO DE LITERATURA.....</u>	<u>6</u>
4.1. IMUNOPATOGÊNESE DA ASMA.....	6
4.2. VACINA BCG.....	13
4.3. RESPOSTA IMUNE A TUBERCULINA.....	16
4.4. CICATRIZ DE BCG	18
<u>5. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</u>	<u>21</u>
5.1. LOCAL E POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	21
5.2. DESENHO DO ESTUDO.....	22
5.2.1 CRITÉRIOS PARA SELEÇÃO DOS CASOS	22
5.2.2 CRITÉRIOS PARA SELEÇÃO DOS CONTROLES	22
5.2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO DOS CASOS E CONTROLES.....	23

5.2.4	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DOS CASOS E CONTROLES.....	23
5.3.	TAMANHO DA AMOSTRA.....	23
5.4.	DEFINIÇÃO E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS	25
5.4.1	VARIÁVEL DEPENDENTE	25
5.4.2	VARIÁVEIS INDEPENDENTES.....	25
5.5.	OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	27
5.5.1	COLETA DOS DADOS	27
5.5.2	TESTES CUTÂNEOS DE HIPERSENSIBILIDADE IMEDIATA PARA ÁCAROS	28
5.5.3	DIÂMETRO DA CICATRIZ BCG	29
5.5.4	TESTE CUTÂNEO DE HIPERSENSIBILIDADE TARDIA (TESTE TUBERCULÍNICO).....	29
5.5.5	DADOS ANTROPOMÉTRICOS	30
5.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
5.7.	PROBLEMAS METODOLÓGICOS	31
5.8.	ASPECTOS ÉTICOS.....	34
5.9.	ORGANIZAÇÃO E APRESENTAÇÃO.....	34
<u>6. RESULTADOS.....</u>		<u>35</u>
6.1.	CARACTERIZAÇÃO DOS ASMÁTICOS E NÃO ASMÁTICOS	35
6.1.1	CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS	35
6.1.2	CARACTERÍSTICAS SÓCIO - ECONÔMICAS, DEMOGRÁFICAS E AMBIENTAIS DAS FAMÍLIAS	36
6.1.3	HISTÓRIA FAMILIAR DE DOENÇAS ATÓPICAS E RESPOSTA AO TESTE CUTÂNEO DE HIPERSENSIBILIDADE IMEDIATA (TESTE DE PUNTURA) PARA ÁCAROS	39
6.2.	ASSOCIAÇÃO ENTRE ASMA E DIÂMETRO MÉDIO DA CICATRIZ DE BCG.....	39
6.2.1	ANÁLISE DE POTENCIAIS FATORES DE CONFUSÃO	41
6.3.	ASSOCIAÇÃO ENTRE ASMA E REATIVIDADE AO TESTE TUBERCULÍNICO.....	45
<u>7. DISCUSSÃO.....</u>		<u>47</u>
7.1.	ASSOCIAÇÃO ENTRE ASMA E DIÂMETRO MÉDIO DA CICATRIZ DE BCG.....	47
7.2.	ASSOCIAÇÃO ENTRE ASMA E REATIVIDADE AO TESTE TUBERCULÍNICO.....	51

8. CONCLUSÕES E SUGESTÃO 54

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 55

10. ANEXOS 69

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Diâmetro médio de cicatriz de BCG, subdividido em categorias, em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos 40

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Características biológicas das crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001	36
Tabela 2 - Características sócio-econômicas, demográficas e ambientais das famílias das crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001	38
Tabela 3 - História familiar de doenças atópicas e resposta ao teste de puntura em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001	39
Tabela 4 - Diâmetro médio de cicatriz de BCG, subdividido em categorias, em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001	40
Tabela 5 - Diâmetro médio da cicatriz de BCG, segundo a gravidade da asma. Recife - abril a setembro - 2001	41
Tabela 6 - Diâmetro médio da cicatriz de BCG, segundo variáveis sócio-econômicas e demográficas. Recife - abril a setembro - 2001	42
Tabela 7 - Diâmetro médio da cicatriz de BCG em relação a história familiar de doenças atópicas e a resposta ao teste cutâneo de puntura para ácaros. Recife - abril a setembro - 2001	43
Tabela 8 - Odds ratio (OR), intervalo de confiança (IC) e valor de p para a associação entre BCG e asma ajustados pelas variáveis sócio-econômicas. Recife - abril a setembro - 2001	44
Tabela 9 - Odds ratio (OR), intervalo de confiança (IC) e valor de p para a associação entre BCG e asma ajustados pelas variáveis referentes à atopia. Recife - abril a setembro - 2001	45
Tabela 10 - Reatividade ao teste tuberculínico em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001	46

RESUMO

O desequilíbrio entre células Th1 e Th2 pode ser útil em prever o subsequente desenvolvimento de asma. Este estudo teve como objetivo principal avaliar a existência de associação entre asma e diâmetro médio da cicatriz de BCG, e, como objetivo secundário, verificar a associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico. Realizou-se um estudo analítico caso-controle, onde foram selecionados crianças e adolescentes entre 6 e 14 anos. O grupo de casos (asmáticos) foi constituído por 90 indivíduos que estavam em acompanhamento no Ambulatório de Alergia e Imunologia em Pediatria do Hospital das Clínicas da UFPE ou no Ambulatório de Asma da Unidade de Pediatria Helena Moura. Apresentavam antecedente de no mínimo três episódios de dispnéia aliviados com uso de broncodilatador nos últimos doze meses ou estavam em uso de medicação profilática para asma. O outro grupo (controle) foi composto por 90 indivíduos não asmáticos (sem antecedentes pessoais de dispnéia, sibilância ou outras doenças atópicas) selecionados do Serviço de Pronto-atendimento de Pediatria do Hospital das Clínicas - UFPE. A cicatriz de BCG foi medida em seus diâmetros transversal e longitudinal e obtida uma média. O teste tuberculínico foi realizado pela técnica de Mantoux, com leitura após 72 horas. Os resultados demonstraram que asmáticos apresentam um risco 3,2 vezes maior de ter um diâmetro de cicatriz < 5mm do que não asmáticos (IC 95% = 1,40-7,63; $p < 0,01$). Entretanto, não houve associação estatisticamente significativa entre asma e reatividade ao teste tuberculínico (OR=1,11; IC95%=0,56-2,20; $p = 0,86$). Provavelmente, o diâmetro médio da cicatriz de BCG reflete uma deficiência intrínseca na produção de interferon-gama, já presente nos primeiros dias de vida em crianças que possam vir a desenvolver asma. É possível que o diâmetro médio da cicatriz de BCG possa prever o desenvolvimento de asma, porém estudos prospectivos adicionais são necessários para melhor esclarecimento dessa associação.

ABSTRACT

The imbalance between Th1 cells and Th2 cells may be useful in predicting the subsequent development of asthma. This research has as main aim evaluate the existence of association between asthma and BCG scar average diameter, and, secondary to verify the association between asthma and tuberculin test reactivity. An analytic case-control study was performed by selecting children and adolescents between 6-14 year old. The group of cases (asthmatic) was consisted of 90 subjects in medical care at Allergy and Immunology Pediatric Ambulatory of *Hospital das Clínicas* - UFPE or at Asthma Ambulatory of *Helena Moura* Pediatric Unit. They had presented references of at least three cases of dyspnoea, relieved by bronchodilator in the last twelve months, or by using prophylactic medication for asthma. The other group (controls) was composed by 90 non-asthmatic subjects (without personal references of dyspnoea, wheezing or other atopic diseases) selected from Pediatric Emergency Service of *Hospital das Clínicas* – UFPE. The BCG scar was measured as the average of the transverse and longitudinal diameters. The tuberculin skin test was conducted using Mantoux's technique, read after 72 hours. The results showed that asthmatic subjects have a 3.2 times greater risk to show a scar diameter < 5mm than non-asthmatic subjects (IC 95% = 1.40 – 7.63; $p < 0.01$). However there wasn't any relevant statistical association between asthma and tuberculin test reactivity (OR=1.11; IC95% = 0.56-2.20; $p = 0.86$). Probably, BCG scar average diameter reflects an intrinsic deficiency in interferon gamma production, already present in the first days of life in children who could develop asthma. It is possible that the BCG scar average diameter could predict the asthma development, although additional prospective studies are necessary to confirm this association.

1. INTRODUÇÃO

A prevalência de asma na população mundial é elevada, principalmente em crianças, com elevado custo social e econômico. No Brasil, os estudos epidemiológicos referentes a asma são poucos e desconhece-se a verdadeira dimensão da doença nas diferentes regiões do país ²⁶.

Dados recentes do "International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)", onde foram estudadas, através de questionário padronizado, 463.801 crianças de 13-14 anos em 155 centros de 56 países e 304.796 crianças de seis e sete anos em 99 centros de 42 países, com o objetivo de estabelecer a prevalência e gravidade das doenças atópicas, a prevalência de sintomas de asma variou de 1,6% a 36,8%. As mais elevadas prevalências foram verificadas no Reino Unido, na Austrália, na Nova Zelândia e na República da Irlanda, seguidas pela maioria dos centros das Américas do Norte, do Centro e do Sul ¹²³. No Brasil, o ISAAC foi realizado em São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, Salvador, Uberlândia e Recife. Entre 13.204 crianças entrevistadas, na faixa etária de seis a sete anos, a prevalência de asma diagnosticada variou de 4,7% a 20,7%. Na faixa etária de 13 a 14 anos, entre os 17.555 adolescentes estudados esta prevalência oscilou entre 4,8% e 21,9% ²⁶. Em Recife, a prevalência de asma diagnosticada foi de 20,43% (6 e 7 anos) e de 20,84% aos 13 e 14 anos ¹⁹.

Segundo dados do "National Health Interview Survey", 1995, esta doença afeta mais que quinze milhões de pessoas nos Estados Unidos da América (EUA) tendo aproximadamente cinco milhões destas idade inferior a dezoito anos, ocorrendo, neste grupo, mais que 500.000 hospitalizações e mais que 5.000 mortes anuais. O custo total da asma nos EUA aumentou de 4,5 bilhões de dólares em meados da década de oitenta, para aproximadamente 10,7 bilhões de dólares no início da década de noventa ¹¹⁹. No Brasil, em ambulatórios gerais, tem sido responsável por 5% das consultas pediátricas e em serviços de urgência pediátrica tem atingido até 16% dos atendimentos. Em 1996, ocorreram cerca de 350.000 internações por asma, sendo a terceira causa de internação em todo o país, em crianças e adultos jovens. Anualmente ocorrem neste país aproximadamente 2.000 óbitos por esta doença, 70% dos quais durante hospitalização e a maioria sem receber tratamento intensivo. Em 1996, o gasto foi aproximadamente de 76 milhões

de reais com as internações por asma, o que representou o terceiro maior valor de gastos do SUS em todo país com uma doença²⁶.

A asma é uma doença crônica, com fenótipos clínicos variados, tanto em adultos quanto em crianças, caracterizada por três eventos principais que ocorrem nas vias aéreas: obstrução ao fluxo aéreo reversível ou parcialmente reversível, aumento da responsividade brônquica a vários estímulos e inflamação. Esta última representando o evento primordial desta doença²¹.

A inflamação alérgica nas vias aéreas consiste em um infiltrado de mastócitos, eosinófilos e linfócitos. Embora os mastócitos e eosinófilos sejam comumente considerados os efetores principais, evidências crescentes sugerem a importância fundamental das células T na indução e na persistência da inflamação. Estas células desempenham um papel central no controle da resposta imune e determinam a especificidade da resposta⁷³.

Mosmann et al⁷⁷ a partir de estudos em camundongos e Del Prete et al²⁸ em humanos, descreveram a diferenciação funcional dos linfócitos T CD4+ em duas formas polarizadas, nomeadas de Th1 e Th2, de acordo com o padrão de citocinas por elas liberadas. As células Th1 produzem interferon gamma (INF- γ), interleucina 2 (IL-2) e fator de necrose tumoral β (TNF- β), os quais têm efeito na produção de anticorpos opsonizadores e fixadores de complemento pelas células B, ativação de macrófagos, citotoxicidade celular e indução de imunidade mediada por células. As células Th2 liberam interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 6 (IL-6), interleucina 9 (IL-9), interleucina 10 (IL-10) e interleucina 13 (IL-13), e são responsáveis pela inflamação alérgica na asma.

As células Th1 podem controlar as células Th2 e vice-versa. A produção de IL-4 e IL-10 pelas células Th2 bloqueiam a produção de citocinas pelas células Th1, e, por sua vez a secreção INF- γ de pelas células Th1, inibem a proliferação e diferenciação dos linfócitos Th2^{31,124}.

A predisposição à atopia parece ser determinada precocemente na vida embrionária. A gravidez em mamíferos, incluindo o homem, é acompanhada por um desvio do sistema imune materno para a imunidade do tipo Th2¹³⁰ e, como consequência, as respostas imunes do neonato são também caracteristicamente do tipo Th2. No período pós-natal, a maturação desse sistema no recém-nascido é marcada pela transição de um imunofenótipo Th2 para Th1, contudo a eficiência e a

cinética desse processo depende da interação entre fatores genéticos e ambientais¹¹.

Há evidências, a partir de estudos de células mononucleares do sangue periférico, que crianças que irão desenvolver asma e/ou outras doenças atópicas (como eczema) produzem menores quantidades de INF- γ ^{70,91}, IL-12⁶⁵ ou ambos no início da vida. Tem sido sugerido que a ausência ou escassez dessas citocinas inibitórias de linfócitos do tipo Th2 pode ser responsável pela persistência do padrão fetal de resposta Th2 após o nascimento e pela diferenciação e maturação de células Th2 de memória⁹¹. A extensão do desequilíbrio entre células Th1 e Th2 durante o período neonatal pode ser o determinante chave da predisposição genética para asma ou outras doenças atópicas e pode ser útil em prever o subsequente desenvolvimento destas²¹. Um importante estudo retrospectivo verificou que a expressão de doenças atópicas e atopia em crianças aos doze anos de idade foi mais prevalente entre aquelas que tinham previamente demonstrado uma menor reatividade ao teste tuberculínico (resposta dependente de linfócitosTh1)¹¹⁵.

O bacilo de Calmette-Guérin (BCG), quando administrado por via intradérmica, inclusive em recém-nascidos, induz um significativo aumento na resposta de citocinas derivadas de linfócitos Th1⁶⁸. Estudos têm demonstrado que as reações teciduais que se desenvolvem no sítio da imunização com este bacilo são proporcionais a produção de INF- γ em resposta aos antígenos micobacterianos^{46,58,94}. Portanto, o diâmetro da cicatriz de BCG provê uma medida útil da resposta imune do indivíduo a esta vacina³², estando usualmente relacionado a dose desta e as reações locais secundárias a administração da mesma⁴. Estudo caso-controle em crianças verificou uma maior freqüência de cicatriz da vacina BCG menor do que 5mm em crianças asmáticas do que em crianças não asmáticas. É possível que o diâmetro da cicatriz de BCG, além de ser a melhor expressão *in vivo* da resposta imune a esta vacina, também reflita a produção de citocinas Th1 secundárias a estimulação¹¹¹.

Uma vez que marcadores genéticos da asma ainda não estão disponíveis é extremamente atraente avaliar a possibilidade de outros preditores, neste estudo, o diâmetro de cicatriz de BCG, capazes de identificar indivíduos em risco, antes da doença ter sua expressão clínica. Isto contribuirá para que terapêuticas profiláticas

sejam instituídas prevenindo o desenvolvimento desta doença crônica, de elevada prevalência em nosso meio ¹⁹, importante causa de hospitalização, absenteísmo escolar, limitação para esportes e outras atividades físicas em graus variados na infância e adolescência ²⁶.

2. HIPÓTESE

As crianças asmáticas apresentam menor diâmetro de cicatriz da vacina BCG, refletindo uma menor habilidade em reagir a estímulos indutores de resposta dos clones de linfócitos T CD4+ tipo1.

3. OBJETIVOS

3.1. *Objetivo geral*

Verificar a associação entre o diâmetro de cicatriz BCG e a presença de asma.

3.2. *Objetivo específico*

Comparar o diâmetro de cicatriz BCG de crianças e adolescentes asmáticos com o de crianças e adolescentes não asmáticos.

3.3. *Objetivo secundário*

Comparar a reatividade ao teste tuberculínico de crianças e adolescentes asmáticos com a de crianças e adolescentes não asmáticos.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. *Imunopatogênese da asma*

Os conhecimentos atuais sobre a imunopatogênese das doenças atópicas estão baseados em uma resposta imune específica polarizada mediada por linfócitos T *helper*. Os fatores responsáveis por esta polarização em um padrão predominantemente Th1 ou Th2, têm sido extensivamente investigados em camundongos e humanos. Fortes evidências sugerem que células Th1 e Th2 não derivam de linhagens distintas, mas se desenvolvem de uma mesma célula T precursora (Th0) sob a influência de fatores genéticos e ambientais que atuam ao nível da apresentação do antígeno. Entre os fatores ambientais, têm sido demonstrado que a rota de entrada do antígeno, a forma física deste antígeno, o tipo de adjuvante e a dose do antígeno desempenham importante papel. Os mecanismos genéticos envolvidos no controle do tipo de diferenciação da célula T permanecem, no entanto, não elucidados⁹⁹.

Os fatores genéticos e ambientais influenciam a diferenciação em célula Th1 ou Th2 principalmente por determinar a predominância de uma dada citocina no microambiente da célula T efetora. A presença de IL-4 é o mais potente estímulo para diferenciação em Th2, enquanto o INF- γ e o IL-18 favorecem o desenvolvimento de células Th1, sendo a IL-12 o mais potente indutor de uma resposta do tipo Th1. A IL-12 é produzida principalmente pelas células dendríticas sob a estimulação de sinais exógenos e pela presença de INF- γ ¹⁰⁰. Entretanto, os mecanismos responsáveis pela produção inicial de IL-4 na diferenciação de células Th0 em Th2 efetoras, bem como a fonte de IL-4, permanecem não esclarecidos. O papel em potencial das células T nulas como fonte inicial de IL-4, apresentando uma função autoreguladora de sua própria produção tem sido sugerido. Estas células são capazes de produzir pequenas quantidades de IL-4 para sua ativação inicial e a concentração de IL-4 que se acumula a nível de célula efetora aumenta com o número de linfócitos ativados. O efeito indutor da IL-4 predomina sobre outras citocinas, tanto que, se os níveis de IL-4 alcançam um limiar necessário, a diferenciação da célula T ocorre para o fenótipo Th2. Recentemente foi demonstrado que a IL-6 derivada das células apresentadoras de antígenos é capaz de polarizar

as células Th nulas para células Th2 efetoras por induzir a produção inicial de IL-4 pela célula T²⁵.

Os mecanismos moleculares pelos quais a IL4 e IL12 promovem o desenvolvimento das células Th0 em Th2 e Th1, respectivamente, ainda não foram totalmente esclarecidos. A ligação destas citocinas aos seus receptores resulta na indução de sinais transdutores e ativadores da transcrição (STATS), os quais atuam nos genes que codificam as citocinas inflamatórias. Destes o STAT4 parece ser seletivamente ativado pela IL12 e a destruição do gene STAT4 resulta na inibição de respostas Th1. Por outro lado, a sinalização pela IL4 ocorre através da ativação de STAT6 e a destruição do gene STAT6 resulta em uma deficiente resposta Th2^{2,25,101}. As células Th2 são responsáveis, tanto direta quanto indiretamente, por todas as características da inflamação alérgica na asma. De fato, a IL-4, a IL-5 e a IL-13 atuam direta ou indiretamente na grande maioria das manifestações fisiopatológicas dos pacientes alérgicos. A IL-4 e IL-13 são responsáveis pelo direcionamento do isotipo da célula B para produção de IgE, pela indução da expressão de receptores de alta afinidade para IgE (em mastócitos e basófilos), pela adesão dos eosinófilos às células endoteliais, e por estimular o crescimento de fibroblastos, bem como a síntese de matriz protéica extracelular^{12,134}. A IL-5 induz a maturação de eosinófilos pelas células precursoras da medula óssea, promove a quimiotaxia, ativa e prolonga a sobrevivência dos mesmos¹². A IL-5 e a IL-9 favorecem a fibrose subepitelial e esta última juntamente com as interleucinas 4 e 13 são responsáveis pela hipersecreção de muco e indução de metaplasia pelas células mucosas¹⁰¹.

Vários achados apoiam o conceito de que as doenças atópicas resultam de uma resposta do tipo Th2 a simples ou múltiplos alérgenos ambientais. Dados obtidos de estudos em humanos indicam que: alérgenos preferencialmente expandem clones de células Th2 em atópicos, enquanto células T alérgeno-específicas em não atópicos são na sua maioria Th1¹³³; espécimes de biópsia brônquica de pacientes asmáticos apresentam elevada expressão de RNA mensageiros para interleucinas do tipo Th2^{52,53,98}; imunoterapia específica bem sucedida encontra-se associada a mudanças do padrão de células T alérgeno reativas do tipo Th2 para o tipo Th1^{56,112}. Ao se estudar o modelo experimental, são evidências desta resposta polarizada para Th2: transferência de células Th2 em camundongos induz eosinofilia, hipersecreção de muco e hiperresponsividade nas

vias aéreas. O mesmo não se observa se forem transferidas células Th1; alergia e asma não podem ser induzidas ou são menos graves em animais cujos genes envolvidos no desenvolvimento de resposta Th2 foram destruídos; camundongos transgênicos que expressam citocinas Th2 no epitélio das vias aéreas exibem eosinofilia, hiperprodução de muco, hiperresponsividade e remodelamento das vias aéreas¹⁰⁰.

A expressão da imunidade desviada para Th2 para alérgenos ambientais comuns é, portanto, o marcador do fenótipo atópico e contrasta com o padrão Th1 verificado em adultos normais não atópicos¹³³. Recentes estudos indicam que estas diferentes respostas a alérgenos são comumente programadas na memória imunológica durante o início da infância e representam o resultado da competição entre linfócitos Th2, secretores de IL-4 e Th1, produtores de INF- γ , os quais são mutuamente antagonistas e ativados por repetidas exposições alérgicas⁹¹. A questão chave em relação a etiologia das doenças atópicas é: qual a base para seleção de células Th2 de memória em indivíduos geneticamente predispostos para atopia?⁹⁰.

Existem evidências consideráveis a respeito do papel da hereditariedade na origem das doenças atópicas (asma, rinite alérgica e eczema). Estudos da história familiar têm encontrado que a presença de asma ou de outras condições atópicas no pai ou na mãe ou em irmãos são importantes fatores de risco para o desenvolvimento destas doenças¹³. Estudos realizados em gêmeos demonstram maiores taxas de concordância da doença entre monozigóticos do que entre dizigóticos^{59,79,106} e estimativas da hereditariedade que variam: 36%⁷⁹, 68%⁵⁹, 87%³⁸.

As pesquisas dos genes e interações gênicas que causam a suscetibilidade para asma tem sido bastante intensas na última década. Cinco regiões de suscetibilidade maior nos cromossomos 5, 6, 11, 13 e 14 têm sido consistentemente identificadas em múltiplos estudos e recentes relatos apontam para mais regiões candidatas em cromossomos 1, 2, 3, 4, 7, 10, 16, 17, 19, 20, e 21. Estes achados apoiam a hipótese de múltiplos *loci* de suscetibilidade genética para asma, sugerindo que o fenótipo relacionado a asma provavelmente resulta do efeito de vários genes, o que contribui para a heterogeneidade desta doença²².

Vários estudos gênicos apontam o cromossomo 5q31-33 como *locus* de suscetibilidade maior para asma e elevados níveis de IgE. Esta região inclui um agregado de genes que codificam as citocinas IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13^{22,95}, o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos e a cadeia beta da IL-12⁹⁵. Adicionalmente, um *locus* no cromossomo 11 de murinos, equivalente ao cromossomo humano 5q31.1, mostrou controlar a diferenciação Th1/Th2³⁶.

Recentes achados relacionados ao desenvolvimento pós-natal da função imune fornecem uma possível explicação para este fenômeno de seleção de células Th2 de memória em indivíduos geneticamente predispostos⁹⁰.

A gravidez em mamíferos, incluindo humanos, é acompanhada por um desvio do sistema imune materno para um padrão de resposta do tipo Th2. Acredita-se ser este processo uma evolução adaptativa que objetiva proteger a unidade fetoplacentária contra o efeito tóxico de citocinas Th1, tais como o INF- γ ¹³⁰. Este pode causar danos a placenta diretamente ou indiretamente através da ativação de células citotóxicas⁹³. Tem sido sugerido que a produção de IL-10 pelos trofoblastos placentários e seus efeitos mediados ou pela inibição direta da produção de INF- γ pelos linfócitos T e/ou pela supressão da produção de IL-12 pelas células apresentadoras de antígenos, desempenham um importante papel neste desvio de uma resposta do tipo Th1. Estes efeitos podem ser amplificados via a produção pela placenta de elevados níveis de PGE2, a qual seletivamente inibe a produção de INF- γ , e adicionalmente pela produção local de progesterona, a qual estimula a produção de IL-4⁹⁰. Em mulheres com abortos recorrentes inexplicados, células mononucleares do sangue periférico produziram citocinas do tipo Th1, especialmente o INF- γ , em resposta a antígenos trofoblásticos, também sugerindo que a imunidade do tipo Th2 pode ser uma resposta natural do sistema imune materno ao trofoblasto, contribuindo para o sucesso da gravidez⁴⁵.

Como conseqüência desse desvio da imunidade para Th2 durante a gravidez, o sistema imune do recém-nascido é também desviado para uma imunidade do tipo Th2⁹⁰. Prescott et al⁹¹ mensuraram a resposta linfoproliferativa e a produção de citocinas a alérgenos específicos do nascimento aos dois anos de idade. As células mononucleares do cordão umbilical dos recém-nascidos demonstraram um padrão de resposta do tipo Th2, independente da presença de história familiar para atopia ou do desenvolvimento posterior de doenças atópicas.

Naquelas crianças não-atópicas observou-se supressão das respostas Th2 e um aumento da resposta de INF- γ nos primeiros seis meses de vida. Naquelas atópicas houve a consolidação do tipo de resposta Th2, associada a persistência de uma reduzida produção de INF- γ . Esta diminuída habilidade em produzir INF- γ durante a exposição inicial aos alérgenos ambientais pode comprometer a transição de um imunofenótipo Th2 para Th1 ¹²², uma vez que o processo subjacente a esta envolve a inibição da diferenciação e da maturação das células Th2 mediadas pelo INF- γ .

Estudo prévio já havia evidenciado que a capacidade de produzir INF- γ é muito menor em células T fetais que em adultos e que a produção desta interleucina aumenta progressivamente do nascimento até os 5 anos de idade. Entretanto, esta redução na função Th1 é muito maior em indivíduos geneticamente predispostos a atopia ou atópicos, sugerindo a existência de um defeito intrínseco adicional nas células T de tais indivíduos ⁴⁹.

Outros estudos também têm sugerido que uma deficiência na secreção de INF- γ é um componente primário do estado atópico. Lactentes que desenvolveram sintomas de doença atópica ou que tinham teste cutâneo de hipersensibilidade imediata para alérgenos positivo aos doze meses de idade, produziram quantidades significativamente menores de INF- γ ao nascimento ¹²¹. Recém-nascidos com antecedente familiar de doenças atópicas e que desenvolveram manifestação clínica de eczema atópico no primeiro ano de vida apresentaram elevada resposta proliferativa e reduzida produção de INF- γ , pelas células mononucleares do cordão umbilical, em resposta a betalactoglobulina ¹²⁹. Uma correlação inversa entre a produção de INF- γ e IL-2 aos nove meses de idade, e, a reatividade a testes cutâneos de hipersensibilidade imediata para aeroalérgenos aos seis anos de idade foi evidenciada ⁷⁰. Verificou-se uma correlação inversa entre os níveis séricos de IgE total e a resposta linfoproliferativa ao antígeno do toxóide tetânico em crianças aos dois anos de idade ⁹⁰. Células mononucleares do cordão umbilical de recém-nascidos com história familiar de doenças atópicas produziram, em resposta à mitógenos, menores quantidades de INF-gamma e maiores quantidades de IL-6 em relação a neonatos com história familiar negativa ⁶⁷. Em crianças da África do Sul com asma moderada e grave observou-se uma redução progressiva na produção do INF- γ sugerindo que a extensão da deficiência na liberação desta interleucina pode estar relacionado com a gravidade da doença ⁸².

Paralelamente ao importante papel da genética e hereditariedade na origem da asma e atopia é importante considerar as influências do meio ambiente no desenvolvimento das respostas alérgicas ⁹⁶.

O aumento na prevalência de asma e alergias em crianças de países ocidentais, nas últimas décadas ^{20,81,83,85}, reforça o conceito de que fatores ambientais determinam parcialmente a ocorrência dessas condições, tais como: poluição, dieta, exposição alergênica e mudanças nos padrões de exposição microbiana. Estas últimas representadas pelo declínio de muitas doenças infecciosas nos países desenvolvidos, resultantes da melhoria dos padrões de vida e programas de imunizações ^{50,96}.

O aumento nos níveis de alérgenos intradomiciliares tem sido considerado um mecanismo em potencial. A exposição pós-natal precoce a elevados níveis de alérgenos aumenta o risco de expressão subsequente de reatividade a aquele alérgeno ⁵⁰. Pacientes asmáticos da América Latina são freqüentemente sensibilizados aos alérgenos dos ácaros da poeira doméstica. Estudo realizado em São Paulo para determinar a freqüência de sensibilização a alérgenos intradomiciliares através do método de puntura em crianças asmáticas, encontrou uma elevada prevalência de sensibilização aos ácaros: 93,7% para *Blomia tropicalis*, 91,2% para *Dermatophagoides pteronyssinus* e 88,7% para *Dermatophagoides farinae* ⁸. Em Cuiabá, Mato Grosso, a freqüência de positividade ao teste cutâneo de puntura para ácaros em crianças asmáticas foi: *D. pteronyssinus* (69,5%), *D. farinae* (59,3%) e *B. tropicalis* (59,3%) ⁷⁶. Em estudos que avaliaram amostras de poeira domiciliares de cidades brasileiras, inclusive no Recife, encontraram que os ácaros *D. pteronyssinus* e *B. tropicalis* são os mais prevalentes, a semelhança de outras regiões tropicais ^{97,109}.

Strachan et al ¹¹⁹ observaram uma relação inversa entre o número de irmãos mais velhos e atopia ou doenças atópicas e hipotetizaram que infecções adquiridas no início da infância, como resultado do contato com irmãos mais velhos, podem exercer um efeito protetor para o desenvolvimento de atopia. Os autores levantaram a suposição que um declínio no tamanho das famílias, a melhoria das acomodações intradomiciliares, a prevenção de doenças infecciosas virais e os melhores padrões de higiene pessoal - os quais são características do chamado "estilo de vida

ocidental" - podem estar associados com o aumento da prevalência das doenças atópicas, observado nas últimas décadas.

Esta, e observações subsequentes conduziram a formulação da "hipótese da higiene" ¹²². A base biológica para esta hipótese consiste na indução do desenvolvimento de populações de linfócitos Th1 por infecções virais e bacterianas repetidas, particularmente durante o início da vida, e a resultante inibição da proliferação de clones de linfócitos Th2. Nos indivíduos susceptíveis, a menor exposição a infecções propiciaria a ativação preferencial de clones de linfócitos Th2, com um aumento na produção de IgE específica contra aeroalérgenos e aumento na prevalência de sintomas asmáticos ⁶⁹. Não está claro, no entanto, qual período da vida é mais importante para esse processo, ou seja, qual a janela de vulnerabilidade dentro da qual o sistema imune é mais susceptível a influência das infecções, se no primeiro ano de vida ^{9,55,60} ou se essa instabilidade no balanço Th1/Th2 ocorre até a idade escolar ^{48,89}.

Posteriormente ao estudo de Strachan et al ¹¹⁹, von Mutius et al ¹²⁷ verificaram uma relação inversa entre a prevalência de atopia (avaliada pela presença de um ou mais testes cutâneos positivos para aeroalérgenos) e o número de irmãos. Recrutados italianos soropositivos para o vírus da hepatite A apresentaram uma menor prevalência de atopia em relação aqueles soronegativos. Nestes a prevalência de atopia foi semelhante a encontrada nos soropositivos, apenas quando tinham três ou mais irmãos mais velhos ⁷¹. Estudo realizado na Guiné-Bissau, oeste da África, encontrou uma relação inversa entre a ocorrência de sarampo na infância e a positividade aos testes de puntura para aeroalérgenos, incluindo o *Dermatophagoides pteronyssinus* e *D. farinae*, em adultos jovens ¹¹⁴.

Por causa da estreita relação da asma com atopia, tem sido especulada a relação de alguns dos fatores de risco supracitados com o desenvolvimento desta doença ¹²². O tamanho da família (ter irmãos mais velhos) e/ou a permanência em creches têm sido associados, de uma maneira consistente, a um decréscimo no risco de desenvolver asma ^{9,78,89}. Infecção prévia por microorganismos gastrointestinais de transmissão orofecal, tais como, *Toxoplasma gondii*, *Helicobacter pylori* e vírus da hepatite A, associou-se a uma menor frequência de asma e rinite alérgica em estudo realizado em recrutas militares italianos ⁷².

O bacilo de Calmette-Guérin (BCG), quando administrado por via intradérmica, induz um significativo aumento na resposta de citocinas derivadas de linfócitos Th1^{44,58}. Embora os dados sugiram que o sistema imune do recém nascido seja desviado para respostas do tipo Th2, Marchant et al⁶⁸ demonstraram que a vacinação com BCG ao nascimento estimula uma resposta Th1 de magnitude equivalente a lactentes imunizados com 2 ou 4 meses de vida, sugerindo que recém-nascidos podem desenvolver respostas imunes do tipo Th1. Este tipo de resposta induzida pelo BCG em recém-nascidos é provavelmente dependente da ativação de células apresentadoras de antígeno, mais especificamente das células dendríticas, as quais estão envolvidas na iniciação das respostas imunes primárias. O BCG infecta estas células e aumenta a sua capacidade de apresentar antígenos para as células T, por meio da expressão de moléculas de superfície e da produção de IL-12 por aquelas células. Na presença de IL-12 e sinais estimulatórios adequados, os linfócitos T diferenciam-se em Th1. Esta observação que a vacina BCG administrada no período neonatal induz uma resposta Th1 sugere um importante impacto desta no desenvolvimento do sistema imune, podendo prevenir o desenvolvimento de respostas alérgeno-específicas do tipo Th2, e, portanto da asma e outras doenças atópicas⁶⁸.

4.2. Vacina BCG

A vacina BCG foi desenvolvida neste século, em 1920, quando Calmette e Guérin, no período de 13 anos, compreendido entre 1906 e 1919, utilizando subculturas seqüenciais de *Mycobacterium bovis* em meio de cultura específico, obtiveram uma cepa atenuada capaz de proteger cobaias contra infecção por *Mycobacterium tuberculosis*^{30,39,104}.

Os bacilos resultantes dessa atenuação nunca foram clonados e são mantidos por diversos laboratórios, através de passagens seriadas em meios de cultura^{30,39}. Embora todas conhecidas como BCG, essas vacinas, utilizadas mundialmente, não podem ser consideradas bacteriologicamente idênticas, devido a variabilidade biológica do bacilo, com cepas distintas genotípica e fenotipicamente. Portanto, as vacinas possuem características diferentes, a depender do laboratório produtor, em relação à viabilidade, imunogenicidade, reatogenicidade e virulência residual^{23,39}.

O controle de qualidade da vacina BCG está desde 1948 sob a responsabilidade da Organização Mundial de Saúde (OMS) a nível internacional. O teste de controle de qualidade é coordenado pela secção BCG do Departamento de Controle de Qualidade do *State Serum Institute*, em Copenhagen, com a assistência de três a quatro laboratórios colaboradores na Ásia e Europa, e, do Centro Pan Americano de Zoonoses (CEPANZO), em Buenos Aires, o qual serve como centro de referência para Região das Américas e realiza a coordenação, testes e treinamento de funções para esta região com a supervisão de Copenhagen ⁷⁵.

No Brasil, a vacina BCG é produzida a partir da cepa Moreau e fabricada pela Fundação Atauípho de Paiva no Rio de Janeiro, desde 1927, para administração por via oral, e , a partir de 1969, para a via intradérmica. É considerada de boa potência quando comparada com outras estirpes de BCG produzidas no mundo. Sua apresentação é sob a forma liofilizada, em ampolas com múltiplas doses, devendo ser armazenada entre 2º e 8º C ¹⁷.

A vacina BCG foi utilizada pela primeira vez em humanos em 18 de julho de 1921, por Weill-Halé e Turpin em uma maternidade de Paris, para proteger o recém-nascido filho de uma parturiente portadora de tuberculose que morreu poucas horas após o seu nascimento. Não foram observadas reações adversas e a criança desenvolveu-se saudável. Em 1924, o Instituto Pasteur iniciou a produção em massa da vacina BCG ¹⁰⁴.

A Organização Mundial de Saúde recomenda desde 1974, a vacina BCG no calendário básico de imunização infantil ¹³². Deve ser administrada no primeiro mês de vida em países com alta incidência de tuberculose, visando principalmente a proteção de crianças contra formas graves da doença, especialmente a disseminação hematogênica e meningite tuberculosa ¹⁷.

Existe indicação prioritária, no Brasil, para o uso em crianças de 0 a 4 anos, sendo obrigatória para crianças menores de um ano, como dispõe a Portaria nº 452, de 06/12/76, do Ministério da Saúde ¹⁰².

Em 1994 foi recomendada pela Coordenação Nacional de Pneumologia Sanitária, no Brasil, a revacinação de crianças após os 6 anos de idade visando controlar a ocorrência de tuberculose em adultos jovens ¹⁵. Atualmente recomenda-se que esta dose de reforço seja aplicada preferencialmente aos 10 anos de idade podendo ser antecipada até os 6 anos ¹⁸.

Em Pernambuco, a cobertura da vacina BCG aumentou nos últimos 10 anos, de 51% para 100% no primeiro ano de vida ⁸⁸. Por ser a primeira vacina administrada após o nascimento, estando disponível de forma gratuita nos serviços de saúde e maternidades, o seu acesso não parece estar condicionado ao nível sócio-econômico ⁸⁷.

Existem várias pesquisas sobre o uso da vacina BCG na prevenção das doenças atópicas, com resultados controversos. Em modelo animal, a vacina BCG suprimiu a sensibilização alérgica e o desenvolvimento de hiperreatividade nas vias aéreas ⁴⁴. Em escolares suecos, com história familiar de atopia, nos quais a vacina BCG foi administrada nos primeiros seis meses de vida, não se evidenciou efeito protetor desta vacina no desenvolvimento de doenças atópicas ⁵. Em um outro estudo sueco, porém de crianças não selecionadas quanto a predisposição genética para atopia, não foi observada redução na prevalência de doenças atópicas associada a administração de BCG no primeiro ano de vida entre as crianças nascidas na Suécia. Entretanto, entre as crianças imigrantes, a maioria nascida na Ásia e América do Sul, a imunização com BCG foi associada com uma menor prevalência de doenças atópicas ¹²⁰. Na Guiné-Bissau, oeste da África, verificou-se uma redução na prevalência de atopia em crianças e adolescentes entre 3 e 14 anos, quando aquela vacina foi aplicada nos primeiros meses de vida e principalmente na primeira semana após o nascimento ¹.

Shirakawa et al ¹¹⁵ realizaram estudo coorte retrospectivo em escolares japoneses, com o objetivo de avaliar a relação entre hipersensibilidade retardada ao *M. tuberculosis* e sintomas atópicos. Evidenciaram que reações positivas a tuberculina (≥ 10 mm de endureção) correlacionaram-se com uma menor incidência de doenças atópicas. Estes autores sugerem que a exposição precoce ao *M. tuberculosis* pode inibir o desenvolvimento de doenças atópicas por modificação do padrão de citocinas do sistema imune .

De fato, o *Mycobacterium tuberculosis*, bactéria intracelular, é um forte indutor de uma resposta imune mediada por células. Macrófagos infectados por esta bactéria secretam interleucina 12, a qual induz o desenvolvimento de linfócitos do tipo Th1, secretores de INF- δ . Esta citocina bloqueia a atividade de clones de células Th2, inibindo a síntese de IgE e o desenvolvimento de alergia ². A repressão

de mecanismos imunes Th2 e atopia pela exposição ao *M.tuberculosis*, portanto, parece possível⁵⁰.

Strannegard et al¹²⁰ estudaram a relação entre infecções por micobactérias atípicas e a ocorrência subsequente de alergia e verificaram que a frequência total de reatividade a testes cutâneos para as micobactérias atípicas, *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium scrofulaceum*, foi maior em crianças alérgicas em relação as não alérgicas. Entretanto, reações fortemente positivas (≥ 10 mm) foram vistas em menor frequência em alérgicos do que não alérgicos. Os autores propõem que seus achados, bem como aqueles de Shirakawa et al¹¹⁵, podem apenas refletir uma menor habilidade de indivíduos atópicos em responder a estímulos promotores de resposta Th1, mais do que um papel protetor das micobactérias no desenvolvimento de alergia.

Neste aspecto, é importante diferenciar a resposta ao derivado protéico purificado da tuberculina (PPD) daquela decorrente à vacina BCG. O PPD é o protótipo dos antígenos utilizados nas reações de hipersensibilidade do tipo retardada¹⁰.

4.3. Resposta imune a tuberculina

Após um indivíduo se tornar infectado pelo *M. tuberculosis*, linfócitos T proliferam e tornam-se sensibilizados. Dentro de semanas estas células T já estão presentes na corrente sanguínea. A injeção de tuberculina na pele estimula os linfócitos e ativa uma série de eventos que conduzem a uma reação de hipersensibilidade do tipo retardada. Esta resposta é chamada "retardada" porque se torna evidente após 24 a 48 horas. A reatividade dérmica envolve vasodilatação, edema e infiltração de linfócitos, basófilos, monócitos e neutrófilos no sítio da injeção do antígeno. Linfócitos T antígeno específicos proliferam e liberam citocinas, as quais mediam o acúmulo de outras células no sítio da injeção. A área de infiltração celular ou endureção reflete atividade de hipersensibilidade do tipo retardada⁵¹.

A sensibilização de linfócitos usualmente alcança o nível adequado para produzir uma resposta de hipersensibilidade do tipo retardada em duas a dez semanas após a infecção inicial pelo *M.tuberculosis*. Esta sensibilidade em geral persiste por muitos anos, embora a reatividade possa diminuir com o passar do tempo⁵¹.

A sensibilidade tuberculínica depende da qualidade do BCG, da cepa utilizada, do número de doses da vacina, do estado nutricional, da resposta imune da criança e do intervalo de tempo entre a aplicação da vacina e a realização do teste ¹¹³.

Resultados falso-positivos são mais comumente atribuíveis a presença no PPD de antígenos que são compartilhados por outras micobactérias. As fontes em potencial de reações cruzadas devido a estes antígenos são infecções por micobactérias atípicas e vacinação com BCG. No entanto, quanto maior o tamanho da enduração maior a probabilidade da reação representar uma verdadeira infecção pelo *M.tuberculosis* ⁵¹.

Estudos que avaliaram a reatividade tuberculínica de acordo com o número de cicatrizes de BCG, verificaram uma correlação direta entre os diâmetros médios de enduração e o número de cicatrizes: 2,3mm (nenhuma), 6,7mm (uma), 10,9mm (duas) e 13,2mm (três) ¹¹³; 3,2mm (nenhuma), 6,3mm (uma), 10,7mm (duas) e 14,8mm (três) ⁵⁴; 1,2 (uma), 12,5 (duas), 13,3 (três) ¹²⁵, respectivamente. Entretanto, não há um consenso do ponto de corte do diâmetro de enduração que signifique infecção por *M. tuberculosis* em crianças com repetidas vacinas de BCG¹²⁵.

Quanto aos resultados falso-negativos ao teste tuberculínico várias causas são descritas. Relacionadas as pessoas testadas: infecções virais, bacterianas e fúngicas recentes ou concomitantes; doenças metabólicas, como insuficiência renal crônica; fatores nutricionais (depleção protéica severa); drogas (corticosteróides e outros imunossupressores) e extremos de idade. Relacionadas a tuberculina utilizada: estocagem inapropriada (exposição a luz e ao calor); desnaturação química; contaminação; diluições inapropriadas. Relacionadas ao método de administração da tuberculina: administração de pouco antígeno; injeção profunda. Relacionadas a leitura do teste ou registro dos resultados: leitor inexperiente; viés do observador; erro na leitura ⁶.

Cher e Mosmann ²⁴ a partir de estudos em camundongos verificaram que apenas as células Th1, secretoras de INF- γ , são capazes de induzir reação de hipersensibilidade retardada. Células Th2 não foram capazes de promover este tipo de resposta. Os autores propuseram que a capacidade em induzir reações de

hipersensibilidade retardada é um critério funcional adicional que distingue clones Th1 de Th2.

Em crianças infectadas com o *M. tuberculosis* a reatividade cutânea à tuberculina é uma reação dependente de linfócitos Th1. Sendo a imunidade desviada para o fenótipo Th2 uma característica dos indivíduos atópicos, a menor reação ao teste tuberculínico em atópicos documentada no estudo japonês pode representar, mais do que um efeito protetor da infecção pelo *M. tuberculosis*, um marcador de atopia³⁷.

Fenômenos similares foram demonstrados em crianças atópicas suecas vacinadas com a vacina anticoqueluche que responderam com uma menor endureção do que as crianças não atópicas⁸⁰ e em crianças alérgicas filandesas que demonstraram uma menor reatividade a antígenos micobacterianos do que crianças não alérgicas⁶¹. Sarinho et al¹¹¹ verificaram uma maior freqüência de cicatriz da vacina BCG menor do que 5mm em crianças asmáticas do que em crianças não asmáticas.

Uma vez que marcadores genéticos ainda não estão disponíveis é extremamente atraente avaliar a possibilidade de outros preditores capazes de identificar indivíduos em risco, antes que a doença alérgica se expresse clinicamente.

4.4. Cicatriz de BCG

Cerca de duas semanas após a administração da vacina BCG por via intradérmica, forma-se uma pápula no sítio de vacinação, cujas dimensões variam de 3 mm a 9 mm. O centro desta lesão amolece da 5ª a 8ª semana formando uma crosta mais evidente. Quando esta crosta cai, deixa em seu local uma úlcera de cerca de 2 mm a 6 mm de diâmetro, que se cura lentamente, entre a 8ª e 13ª semanas, deixando como resultado uma cicatriz plana, com diâmetro de 3 mm a 7mm¹⁶.

Histopatologicamente, a lesão vacinal caracteriza-se por um infiltrado inflamatório composto primariamente por macrófagos epitelióides e linfócitos - observados do 7º ao 14º dia após a vacinação - que progride para uma reação granulomatosa não caseosa bem definida - presente já no 30º dia após a vacinação. A drenagem da úlcera contém bacilos viáveis, que podem ser cultivados até dois

meses após a vacinação, demonstrando um prolongado risco, em potencial, de disseminação por contato da cepa vacinal⁴⁶.

Esta reação normal após a vacinação BCG, com a formação da cicatriz no sítio da injeção, irá depender da cepa da vacina, dose, idade da criança, sexo, método de imunização, estado nutricional, resposta imune da criança e habilidade do vacinador^{3,34,40}.

A importância do estado nutricional é enfatizada em estudo realizado em Nova Delhi, que encontrou uma diferença estatisticamente significativa na frequência de formação de cicatriz entre crianças nutridas e desnutridas³.

A maioria dos estudos mostram a formação de uma cicatriz em cerca de 90% das crianças. A falha na formação da cicatriz de BCG tem se mostrado mais freqüente quando esta é administrada no primeiro mês de vida^{3,63}.

Estudo realizado em Malawi avaliou a reprodutibilidade da leitura do diâmetro da cicatriz em indivíduos que foram vacinados desde os três meses de idade até 60 ou mais anos. Observou que quanto maior o tempo entre a vacinação e a primeira medida maior a reprodutibilidade, sugerindo que as características da cicatriz se estabilizam ao longo do tempo. Para aqueles indivíduos que foram vacinados com menos de quinze anos de idade o diâmetro da cicatriz aumentou ao longo do tempo, ou seja, a cicatriz aumentou com o crescimento do indivíduo³². Este dado é conflitante com os resultados de um outro estudo realizado em crianças iranianas abaixo de seis anos que evidenciou uma redução no diâmetro da cicatriz de BCG com o aumento da idade⁴⁰.

Há também evidências que o *status* de vacinação prévio e o sexo influenciem o diâmetro da cicatriz. Floyd et al³² demonstraram que o diâmetro da cicatriz foi maior em indivíduos com prévia vacinação com BCG e no sexo masculino (quando vacinados acima dos quinze anos).

O diâmetro da cicatriz provê uma medida útil da resposta imune do indivíduo a vacina BCG³². Estudos têm demonstrado uma correlação direta entre a duração de drenagem da úlcera formada no sítio da administração da BCG, duração esta relativa a replicação local do bacilo de Calmette-Guérin, e a resposta linfoproliferativa e de INF- γ específica para micobactéria após a vacinação. Estes resultados sugerem que a imunidade protetora ao bacilo tuberculoso pela vacina BCG requer considerável replicação in situ da cepa vacinal e que os efeitos teciduais

locais associados são proporcionais à indução de uma resposta linfoproliferativa e de INF- γ em resposta a antígenos micobacterianos e à imunidade específica para micobactéria ^{46,58,94}. Portanto, é possível que o diâmetro da cicatriz de BCG, além de ser a melhor expressão *in vivo* da resposta a esta vacina, também reflita a produção de citocinas Th1 secundárias a estimulação ¹¹¹.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1. Local e população de estudo

O presente estudo foi realizado no Ambulatório de Alergia e Imunologia em Pediatria, no Serviço de Pronto-atendimento de Pediatria, do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e no Ambulatório de Asma da Unidade de Pediatria Helena Moura.

O Hospital das Clínicas é uma instituição vinculada ao Ministério da Educação, com função básica de apoiar o ensino de graduação e pós graduação dos Centros de Ensino da Universidade Federal de Pernambuco, em particular o Centro de Ciências da Saúde. Atua como hospital escola e centro de pesquisa científica em todas as áreas médicas, e integra o Sistema Único de Saúde do Estado, prestando serviços médicos hospitalares e atendimento ambulatorial à população do estado de Pernambuco e região Nordeste.

No Ambulatório de Alergia e Imunologia em Pediatria, são realizadas, em média, 200 consultas por mês, de crianças e adolescentes já matriculados no serviço e encaminhados para investigação diagnóstica e tratamento de doenças como: asma, rinite alérgica, eczema atópico e imunodeficiências. Funciona as segundas-feiras e quintas-feiras à tarde, e, terças-feiras pela manhã. O corpo clínico desse setor é composto por pediatras especialistas em alergia e imunologia, que são responsáveis pelo atendimento de pacientes, supervisão de estudantes da graduação, médicos residentes, estagiários e realização de testes cutâneos.

No Serviço de Pronto-atendimento em Pediatria são atendidos crianças e adolescentes que o procuram como serviço de emergência ou com o objetivo de serem encaminhados para investigação e tratamento ambulatorial. São realizadas, em média, 800 consultas por mês, funcionando de segunda-feira à sexta-feira pela manhã.

O ambulatório de Asma da Unidade de Pediatria Helena Moura, vinculado a Prefeitura da Cidade do Recife, atende, em média, 600 crianças e adolescentes com asma e outras doenças alérgicas, encaminhadas a este serviço para tratamento especializado. Funciona de segunda-feira a sexta-feira pela manhã.

A população elegível foi composta por crianças e adolescentes de 6 a 14 anos, de ambos os sexos.

5.2. Desenho do estudo

Realizou-se um estudo analítico do tipo caso-controle. Neste estudo o desfecho é a expressão clínica da asma e o fator de exposição principal é o diâmetro da cicatriz de BCG. No estudo de caso-controle a população é selecionada de acordo com o resultado ou desfecho sob investigação. Ambos, exposição e desfecho sob interesse já ocorreram quando o estudo foi iniciado. Estudos de caso-controle permitem a avaliação de uma variedade de exposições etiológicas que podem se relacionar a uma doença, bem como as interrelações entre estes fatores⁴².

5.2.1 Critérios para seleção dos casos

Todas as crianças e adolescentes asmáticos que compareceram ao Ambulatório de Alergia e Imunologia em Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, no período de abril a setembro de 2001, e ao Ambulatório de Asma da Unidade de Pediatria Helena Moura, durante o mês de setembro de 2001, em todos horários de funcionamento dos mesmos e que preenchiam os critérios clínicos para seleção: apresentavam antecedente de no mínimo três episódios de dispnéia, aliviados com uso de broncodilatador nos últimos doze meses ou estavam em uso de medicação profilática para asma.

5.2.2 Critérios para seleção dos controles

Foram considerados controles todos os indivíduos que procuraram o Serviço de Pronto-atendimento de Pediatria, de segunda-feira a sexta-feira pela manhã (horário de funcionamento), no período de abril a setembro de 2001 e que preenchiam os critérios clínicos de seleção. Foram classificados como controles (não asmáticos) as crianças e adolescentes que não tinham antecedentes pessoais de dispnéia e/ou sibilância, nem de outras doenças atópicas (asma, rinite alérgica e eczema).

5.2.3 Critérios de inclusão dos casos e controles

- 6 a 14 anos de idade.
- Procedência da Região Metropolitana do Recife (Abreu e Lima, Araçoiaba, Cabo, Camaragibe, Igarassu, Ipojuca, Itamaracá, Itapissuma, Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Olinda, Paulista, Recife e São Lourenço da Mata).
- Vacinação com BCG nos primeiros três meses de vida, avaliada pelo registro no cartão vacinal.
- Peso ao nascer > 2500 gramas, obtido por informação materna ou registro no cartão vacinal.

5.2.4 Critérios de exclusão dos casos e controles

- Uso das seguintes medicações: antihistamínicos nos últimos 10 dias; cetotifeno nos últimos 5 dias; antidepressivos tricíclicos nos últimos 10 dias; uso atual de betabloqueadores e inibidores da enzima conversora da angiotensina; corticóide tópico por mais de uma semana, nas últimas três semanas.
- Desnutrição grave.
- Ter diagnóstico de imunodeficiência, cardiopatias, nefropatias, hepatopatias e doenças neurológicas, síndromes genéticas.
- Vigência de crise de asma (aplica-se apenas para os casos).
- Vigência de quadros febris.
- Ter dermatografismo.
- Apresentar doenças de pele no local da realização dos testes cutâneos de punctura.
- Estar sem acompanhante ou acompanhado por informantes inadequados (sem convivência intradomiciliar diária ou menor de idade).
- Ter cicatrizes de BCG superpostas impossibilitando a mensuração

5.3. Tamanho da amostra

O cálculo da amostra para a associação entre asma e diâmetro da cicatriz de BCG foi feito baseado em estudo anterior realizado por Sarinho et al ¹¹¹. Neste estudo a proporção de exposição entre os controles, ou seja, a proporção de crianças não asmáticas que apresentava o diâmetro de cicatriz < 5mm foi de 23,9% e a proporção de exposição entre os casos (crianças asmáticas com diâmetro de

cicatriz < 5mm) foi de 42,5%. Admitindo-se um erro alfa de 5% e um erro β de 20%, correspondente a um *power* de 80%, foi calculado o tamanho da amostra utilizando-se o programa EPHINFO versão 6.0 (função statcalc), para estudos de caso-controle.

O tamanho da amostra estimado foi de 110 pacientes em cada grupo, totalizando 220 indivíduos. No entanto, em virtude do período de tempo hábil para coleta dos dados e das dificuldades para obter aquele tamanho amostral previamente estabelecido, quando foi alcançado 80% do mesmo foi realizado um novo cálculo de amostra, baseado-se nos dados obtidos até o momento:

- Frequência de cicatriz de BCG < 5mm nos asmáticos: 30,0%
- Frequência de cicatriz de BCG < 5mm no grupo de não asmáticos: 12,0%

Obteve-se um tamanho amostral mínimo de 90 indivíduos em cada grupo, totalizando 180 pacientes. Calculou-se o *power* do estudo com este tamanho amostral e com os parâmetros do estudo de Sarinho et al (2000), utilizando-se a fórmula para cálculo do "power" em estudos de caso-controle ⁴¹:

$$z_{1-\beta} = \sqrt{\frac{n \times (p_1 - p_0)^2}{(p_0 q_0 + p_1 q_1)}} - z_{1-\alpha/2} \quad \text{onde:}$$

$z_{1-\beta}$ = valor da curva de distribuição normal correspondente ao "power" do estudo

p_1 = proporção de expostos entre os casos

p_0 = proporção de expostos entre os controles

$q_1 = 1 - p_1$

$q_0 = 1 - p_0$

n = número de indivíduos em cada grupo

$z_{1-\alpha/2}$ = valor da curva de distribuição normal correspondente ao nível de significância de alfa.

$$z_{1-\beta} = \sqrt{\frac{90 \times (0,42 - 0,24)^2}{0,24 \cdot 0,76 + 0,42 \cdot 0,58}} - 1,96 = 0,67$$

Na tabela de distribuição normal, este valor corresponde a um *power* de 75%.

Utilizados os parâmetros obtidos com os dados coletados até aquele momento (supracitados) com este tamanho de amostra (90), o valor do *power* foi de

85%. Aceitou-se, portanto, neste estudo uma probabilidade entre 75% e 85% de se encontrar uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos se esta verdadeiramente existisse. A coleta de dados foi concluída quando foram obtidos 90 indivíduos em cada grupo.

O cálculo da amostra para associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico foi feito baseado em dados do estudo realizado por Shirakawa et al ¹¹⁵, no qual 49,4% dos não atópicos e 83,0% dos asmáticos, apresentaram um diâmetro de endureção no teste tuberculínico < 10mm. Considerando-se, também, um erro alfa de 5%, e um erro β de 20% (correspondente a um *power* de 80%) foi calculado o tamanho da amostra pelo programa estatístico EPHINFO versão 6.0, obtendo-se um valor mínimo de 36 indivíduos em cada grupo, totalizando 72 pacientes. O teste tuberculínico foi realizado em 89 asmáticos e 83 não asmáticos, num total de 172 indivíduos.

5.4. Definição e categorização das variáveis

As variáveis utilizadas estão definidas a seguir, sendo dispensadas as descrições para dados auto-explicativos.

5.4.1 Variável dependente

Variável	Definição e categorização de termos
Asma	Definição já referida no item 5.2.1

A variável asma foi categorizada quanto a gravidade ²⁶, para verificar sua distribuição em relação ao diâmetro médio de cicatriz de BCG:

Variável	Definição e categorização de termos
Asma leve Asma moderada/grave	Segundo II Consenso Brasileiro no Manejo da Asma ²⁶

5.4.2 Variáveis independentes

Em relação ao objetivo primordial deste estudo, ou seja, verificar a associação entre asma e diâmetro da cicatriz de BCG, a variável independente principal foi:

Variável	Definição e categorização de termos
Diâmetro da cicatriz BCG	< 5mm ≥ 5mm

Quanto ao objetivo secundário, verificar a associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico, a variável independente principal foi:

Variável	Definição e categorização de termos
Reatividade ao teste tuberculínico	< 10mm ≥ 10mm

Outras variáveis independentes foram utilizadas por se tratarem de potenciais fatores de confusão:

Variável	Definição e categorização de termos
Sexo da criança/adolescente	Masculino Feminino
Idade da criança/adolescente	Média e desvio-padrão
Escolaridade materna	Não sabe ler nem escrever Ensino fundamental incompleto Ensino fundamental completo ou ensino médio incompleto Ensino médio completo ou ensino superior
Renda familiar per capita (em salários mínimos)	= 0,50 > 0,50
Renda familiar (em salários mínimos)	< 2 = 2
Pessoas por domicílio	< 5 = 5
Aglomeración domiciliar (n° de habitantes/ n° de cômodos)	< 1 = 1
Abastecimento de água	Dentro de casa Fora de casa

Tipo de esgoto	Rede geral Outros: fossa fechada, fossa aberta e vala aberta
Destino do lixo	Coletado Não coletado
História familiar de doenças atópicas	Positiva (pai ou mãe ou irmãos) Negativa (ausência em todos os familiares supracitados)
Teste de puntura para ácaros	Positivo (enduração \geq 3mm do controle negativo) Negativo (enduração $<$ 3mm do controle negativo)

Foram coletadas informações das seguintes variáveis, possíveis fatores de confusão da associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico:

Variável	Definição e categorização de termos
Estado nutricional atual da criança/adolescente	Avaliado segundo os índices peso/idade, altura/idade e peso/altura, expressos através de percentil, utilizando-se como padrão de referência a curva do National Center of Health Statistics (NCHS). Foi considerada desnutrida a criança que estava abaixo do percentil 3.
História epidemiológica de contato com tuberculosos	Positiva (contato intradomiciliar) Negativa (ausência de contato intradomiciliar)
Número de cicatrizes de BCG	Uma cicatriz Duas cicatrizes
Intervalo de tempo entre a última dose de BCG e a realização do teste tuberculínico	\leq 24 meses $>$ 24 meses

5.5. Operacionalização da pesquisa

5.5.1 Coleta dos dados

As crianças e adolescentes que compareceram ao Ambulatório e Serviço de Pronto-atendimento para consulta médica, foram selecionados através de um formulário triagem (anexo A) para cumprimento dos critérios de participação

previamente estabelecidos. Q(a) acompanhante do(a) menor foi esclarecido sobre os objetivos da pesquisa e procedimentos a serem realizados na mesma e, em seguida, assinou o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo B), sendo então iniciada a entrevista, com um formulário numerado padronizado (anexo C), pela pesquisadora. Estes formulários foram primeiramente testados durante projeto piloto, quando foram realizadas as modificações necessárias. Após a entrevista as crianças e adolescentes foram submetidos aos testes cutâneos de hipersensibilidade imediata para ácaros, tiveram o diâmetro da cicatriz de BCG aferido, realizaram o teste cutâneo de hipersensibilidade tardia com tuberculina e foram pesados e medidos.

5.5.2 Testes cutâneos de hipersensibilidade imediata para ácaros

Foram realizados testes cutâneos, pela técnica de punctura, com extratos purificados de *Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Dermatophagoides farinae* procedentes do IPI-ASAC do Brasil.

Técnica

- Os testes foram realizados pela pesquisadora, em ambiente hospitalar, com recursos para atendimento de emergência. Com a face interna do antebraço limpa, sem usar álcool ou solução antisséptica, foram marcadas, com a caneta hidrográfica, as iniciais dos ácaros;
- Uma gota de cada alérgeno a testar foi colocada na face interna do antebraço da criança. O primeiro reagente foi o controle negativo (solução fisiológica glicerinada - IPI ASAC do Brasil) e o último o controle positivo (histamina - IPI ASAC do Brasil). Os antígenos foram colocados respeitando-se uma distância de 2cm entre um e outro, tanto na horizontal quanto na vertical, de modo que a sobreposição de pápulas fosse evitada, em caso de reações intensas. Os extratos também deveriam distar 5cm do punho e 3cm da fossa antecubital.
- Utilizando-se de um puntor plástico descartável (Alko do Brasil) foi feito um giro de 360°, aprofundando-o de forma a marcar até a derme.
- Aguardou-se 20 minutos após a aplicação, recomendando-se não coçar nem lavar a região do teste.
- Excesso de reagente foi retirado com algodão seco.

Com a régua milimetrada foi aferido o maior diâmetro da endureção e o maior diâmetro perpendicular ao mesmo, calculando-se a média destes diâmetros. O teste foi considerado positivo quando a endureção for maior do que 3 mm do controle negativo^{10,118}. Esses diâmetros foram sempre aferidos por dois observadores (pesquisadora e médico assistente). Os resultados foram expressos em milímetros. Quando não mudavam de categoria foram anotados como definitivo. Quando as diferenças entre as leituras mudavam o resultado do teste de positivo para negativo ou vice-versa, fato verificado em 5,5% da amostra (10/180) - correspondente a um índice de concordância Kappa de 0,88 - um terceiro observador, médico do ambulatório de alergia, também fez a leitura. Os resultados coincidentes foram considerados como resultado do teste.

5.5.3 *Diâmetro médio da cicatriz BCG*

Técnica de leitura

A cicatriz da vacina BCG foi medida com régua milimetrada transparente, no seu diâmetro transverso e longitudinal, fazendo-se uma média dos mesmos. Esses diâmetros foram sempre aferidos duas vezes, pela pesquisadora e médico assistente. Os resultados foram expressos em milímetros. Quando não mudavam de categoria, de < 5mm para = 5mm ou vice-versa, o resultado obtido pela pesquisadora foi anotado como definitivo. Quando houve diferenças entre as leituras que modificavam a categoria dos resultados, fato ocorrido em 6,0% da amostra (11/180) - índice de concordância Kappa = 0,80 - um terceiro observador, médico do ambulatório de alergia, também fez a leitura e os resultados coincidentes foram considerados como resultado do teste.

5.5.4 *Teste cutâneo de hipersensibilidade tardia (teste tuberculínico)*

Foi realizado pela técnica de Mantoux¹⁰ com PPDRT23 procedente do "Statens Serum Institut", Copenhagen, Dinamarca.

Técnica de aplicação

- Injetava-se 0,1ml de PPD RT23 (equivalente a 2 unidades tuberculínicas) no terço médio da face anterior do antebraço esquerdo, na sua metade interna, usando seringa tipo insulina com agulha apropriada (13 × 0,4mm). Para injeção

da tuberculina, firmava-se o antebraço a ser injetado com a mão esquerda do operador e, com os dedos polegar e indicador, distendia-o ligeiramente na direção da agulha e no sentido longitudinal do antebraço. A agulha era angulada quase paralela a superfície da pele para prevenir a injeção subcutânea. Após proceder-se a injeção, observava-se a formação de uma pápula de 6 a 10mm de diâmetro.

- Realizou-se a leitura do teste 72 horas após a sua aplicação, com régua milimetrada transparente padronizada pelo Ministério da Saúde, medindo-se o diâmetro do nódulo de endureção no sentido perpendicular ao maior eixo do braço. O eritema, quando presente foi desprezado. Cada teste foi lido por dois observadores, o pesquisador e médico assistente devidamente treinados. Os resultados foram expressos em milímetros. Quando não mudavam de categoria o resultado obtido pela pesquisadora era anotado como definitivo. Quando as diferenças entre as leituras modificavam o teste de positivo ($\geq 10\text{mm}$) para negativo ($< 10\text{mm}$), o que aconteceu em 7,8% (14/180) da amostra - índice de concordância Kappa = 0,81 - uma terceira pessoa, médico do ambulatório de alergia, também realizou a leitura. Os resultados coincidentes foram considerados como resultado do teste.

As crianças e adolescentes com uma cicatriz de BCG e diâmetro de endureção = 10mm, e, aqueles com duas cicatrizes de BCG e com diâmetro de endureção = 15mm foram submetidos a radiografia de tórax para avaliação dos campos pulmonares, sendo todos os resultados normais.

5.5.5 *Dados antropométricos*

Para pesagem foi utilizada balança do tipo “plataforma” da marca Filizola, com capacidade de até 150kg e sensibilidade de 100g, previamente calibrada. A estatura foi obtida utilizando-se o infantômetro. Por não se dispor de um local privativo, no qual a balança pudesse estar situada, as crianças e adolescentes foram medidas com a suas roupas, apenas retirando os sapatos.

5.6. *Análise estatística*

Os dados obtidos, codificados, foram armazenados em um banco de dados montado no software de estatística EPI-INFO, versão 6.0, com aplicação do

programa CHECK, que permite a verificação automática de erros ocorridos durante a digitação dos dados, além da dupla entrada de dados para validação (VALIDATE), a avaliação do estado nutricional (EPINUT) e por fim a análise estatística (ANALYSIS).

Foi verificada a distribuição de frequência dos potenciais fatores de confusão entre casos e controles e analisou-se a significância estatística através do teste qui-quadrado de Pearson ou com correção de Yates (quando necessário), considerando o valor de p significativo quando $< 0,05$. Quando a diferença foi estatisticamente significativa realizou-se o ajuste na análise utilizando a técnica de regressão logística no programa estatístico SPSS - PC (versão 7.0). No modelo de regressão logística foram utilizados dois grupos de variáveis: as sócio-econômicas (escolaridade materna, renda familiar em salários mínimos, renda familiar percapita, pessoas por domicílio, aglomeração domiciliar) e as referentes à atopia (história familiar de doenças atópicas e teste de puntura para ácaros). Em cada um dos grupos inicialmente o modelo foi saturado com inclusão de todas as variáveis em questão e testou-se então a exclusão de cada uma delas do modelo, utilizando-se a razão de máxima verossimilhança. No modelo final, em cada um dos grupos, acrescentou-se a variável BCG repetindo-se o procedimento anteriormente descrito.

Para comparação entre médias utilizou-se o teste T para amostras independentes.

Para avaliar as possíveis associações entre asma e diâmetro médio da cicatriz BCG, e entre asma e reatividade ao teste tuberculínico foram construídas tabelas de contingência e realizada análise univariada, utilizando-se como medida de risco o "Odds ratio", calculado com intervalo de confiança ao nível de 95%.

5.7. Problemas metodológicos

No presente estudo é provável que indivíduos tenham sido erroneamente classificados quanto ao desfecho (asmáticos e não-asmáticos). Acredita-se que a possibilidade de erro tenha sido maior na classificação dos não-asmáticos, uma vez que esta foi apenas baseada nas informações fornecidas pelo responsável pela criança e adolescente sobre a não existência de sintomas clínicos sugestivos de doenças atópicas e, por erro de memória ou algum outro motivo (como a não valorização), aqueles indivíduos podem ter apresentado tais sintomas e não terem sido referidos. No grupo de asmáticos os indivíduos estavam em acompanhamento

em ambulatório especializado, minimizando-se a probabilidade de erro. Tal erro na classificação quanto ao desfecho foi independente da exposição (diâmetro da cicatriz de BCG), desde que este último não era conhecido no momento da classificação. Trata-se, portanto, da possibilidade de ter ocorrido um erro de classificação não diferencial, cujo efeito consiste em aumentar a similaridade entre os grupos de casos e controles, de modo que uma verdadeira associação entre exposição e desfecho se existente seja subestimada. Um erro de classificação não diferencial pode obscurecer a verdadeira relação entre exposição e desfecho, mas não pode ser a causa de uma associação observada se ela verdadeiramente não existe ⁴².

Também houve a possibilidade de que participantes do estudo tenham sido erroneamente classificados quanto a principal exposição estudada (diâmetro da cicatriz de BCG), em virtude da elevada frequência de uma segunda cicatriz na população de estudo. Para reduzir a probabilidade de erro, seguiu-se norma do Ministério da Saúde ¹⁶ quanto a localização da aplicação da vacina BCG. Considerou-se, portanto, a cicatriz da primeira dose da vacina BCG aquela situada no braço direito, na altura da inserção do músculo deltóide e a cicatriz correspondente a segunda dose situada um a dois centímetros acima daquela. Ainda para minimizar a possibilidade de erros, foram excluídos da pesquisa indivíduos com cicatrizes que se sobrepujam. Uma vez que a inacurácia, deve ter ocorrido em similares proporções nos grupos de estudo, temos novamente a possibilidade de um erro não diferencial, neste caso, na categorização dos indivíduos quanto a exposição.

Como utilizou-se formulários e aferição de medidas - antropométricas, diâmetro da cicatriz de BCG e reatividade ao teste tuberculínico - também poderiam haver vieses do observador e dos instrumentos de coleta dos dados. Para minimizar a possibilidade desses problemas, as seguintes medidas foram tomadas:

- Uniformização do modo de obtenção e registro das respostas com a utilização, para coleta de dados, de um formulário padronizado, constituído por questões fechadas, sempre que possível e de linguagem fácil.
- A aferição das medidas - diâmetro da cicatriz de BCG e reatividade ao teste tuberculínico e teste cutâneo de hipersensibilidade imediata - foi realizada sempre por dois observadores e quando necessário por um terceiro, conforme

descrito no item Operacionalização da Pesquisa, uma vez que não foi possível por motivos operacionais ter sido realizado um estudo duplo-cego. No caso das medidas antropométricas foi checada a calibração do instrumento antes de cada aferição.

A possibilidade de viés de seleção foi considerada neste estudo, uma vez que as crianças e adolescentes asmáticos foram selecionados de ambulatórios especializados diferindo quanto a gravidade da doença, o que poderia influenciar os resultados quanto ao diâmetro da cicatriz de BCG.

A recusa em participar da pesquisa (outro viés de seleção) por parte das crianças e adolescentes era temida uma vez que seriam utilizados meios invasivos para obtenção dos dados. Esclarecimentos quanto à inocuidade dos testes e à importância da pesquisa foram fornecidos e não ocorreram recusas.

Para reduzir a probabilidade de perdas, que se referem a realização e leitura do teste tuberculínico, os responsáveis pelas crianças e adolescentes foram contactados por telefone, no dia antecedente a realização e leitura do teste para confirmação. No grupo de asmáticos, não concluiu a realização do teste tuberculínico um indivíduo (1,1%) e no grupo de não asmáticos sete indivíduos (7,8%), o que pode-se considerar uma perda aceitável, pois mesmo incansáveis investigadores falham em alcançar 5 a 10% dos membros da amostra ^{apud 86}.

Prováveis problemas metodológicos poderiam ocorrer caso não fossem controlados os potenciais fatores de confusão da associação em questão. A escolha de fatores específicos que podem ser considerados potenciais confundidores de uma associação é freqüentemente difícil, porém uma alternativa, utilizada no estudo, foi coletar as informações sobre os fatores de risco para a doença estudada, e verificar se os supostos fatores de confusão estavam distribuídos uniformemente entre os grupos de estudo e comparação ²⁹. Para aquelas variáveis distribuídas de maneira não uniforme (escolaridade materna, renda familiar per capita em salários mínimos, renda familiar em salários mínimos, pessoas por domicílio, aglomeração domiciliar, história familiar de doenças atópicas e teste de puntura para ácaros) foi realizada para controle análise multivariada.

5.8. Aspectos éticos

A pesquisa teve início após aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Os pais ou responsáveis pelas crianças e adolescentes assinaram um formulário de consentimento livre e esclarecido, autorizando a participação destes na pesquisa (vide anexo B), após explicações sobre os objetivos do estudo e procedimentos a serem realizados.

5.9. Organização e apresentação

A apresentação das referências bibliográficas seguiu as normas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), atualizadas em agosto de 2000, conforme NBR 6023⁷.

As tabelas foram elaboradas de acordo com a Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (FIBGE)³³.

6. RESULTADOS

6.1. Caracterização dos asmáticos e não asmáticos

6.1.1 Características biológicas

Das crianças e adolescentes asmáticos 56,7% (51/90) eram do sexo masculino e 43,3% (39/90) do sexo feminino. Entre os não asmáticos, 61,1% (55/90) eram do sexo masculino e 38,9% (35/90) do sexo feminino. Esta diferença não se mostrou estatisticamente significativa ($\chi^2_{\text{Yates}} = 0,21$ e $p = 0,65$).

Quanto a média de idade, no grupo de asmáticos esta foi de $8,8 \pm 2,2$ anos e no grupo de não asmáticos foi de $8,8 \pm 1,8$ anos, não havendo diferença estatisticamente significativa (teste $t = 0,11$ e $p = 0,91$).

Na análise do estado nutricional, não houve diferença estatisticamente significativa no percentual de desnutridos em relação aos índices peso/idade, peso/altura, e altura/idade. Os maiores percentuais de crianças e adolescentes abaixo do percentil 3, tanto no grupo de asmáticos quanto no grupo de não asmáticos, verificou-se no índice altura/idade, 5,6% (5/90) e 11,1% (10/90), respectivamente. No índice peso/idade, 4,4% (4/90) das crianças e adolescentes asmáticos e 5,6% (5/90) das crianças e adolescentes não asmáticos estavam abaixo do percentil 3. (Tabela 1)

Tabela 1 - Características biológicas das crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis	Grupos				Análise estatística	
	Asmáticos		Não asmáticos			
	n	%	n	%		
Sexo						
Masculino	51	56,7	55	61,1	$\chi^2_{\text{Yates}} = 0,21$	p = 0,65
Feminino	39	43,3	35	38,9		
Índices antropométricos						
Peso/idade						
< P 3	4	4,4	5	5,6	$\chi^2 = 1,66$	p = 0,43
P 3 P 10	7	7,8	12	13,3		
≥ P 10	79	87,8	73	81,1		
Peso/altura						
< P 3	1	1,1	0	0,0	$\chi^2 = 1,01$	p = 0,60
P 3 P 10	4	4,4	4	4,4		
≥ P 10	85	94,4	86	95,6		
Altura/idade						
< P 3	5	5,6	10	11,1	$\chi^2 = 2,69$	p = 0,26
P 3 P 10	6	6,7	9	10,0		
≥ P 10	79	87,8	71	78,9		
Média ± desvio padrão						
Idade	8,8 ± 2,2		8,8 ± 1,8		t = 0,11	p = 0,91

6.1.2 Características sócio - econômicas, demográficas e ambientais das famílias

Em relação a escolaridade materna, constatou-se que no grupo de crianças e adolescentes asmáticos 50% (45/90) das mães tinham baixa escolaridade, no qual, 5,6% (5/90) não sabiam ler nem escrever e 44,4% (40/90) não tinham concluído o ensino fundamental. No grupo de não asmáticos um percentual elevado de mães com baixa escolaridade, 75,6% (68/90), onde 8,9% (8/90) não sabiam ler nem escrever e 66,7% (60/90) não tinham concluído o ensino fundamental. Na

análise estatística houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de asmáticos e não asmáticos quanto a essa variável ($\chi^2_{\text{Pearson}} = 13,41$; $p < 0,01$).

Quanto a renda familiar per capita em salários mínimos, 51,2% (44/86) das crianças e adolescentes asmáticos e 81,8% (72/88) das crianças e adolescentes não asmáticos, faziam parte de famílias onde a mesma atingia no máximo meio salário mínimo. Essa diferença foi estatisticamente significativa ($\chi^2_{\text{Yates}} = 17,04$ $p < 0,01$).

Considerando-se a renda familiar em salários mínimos, 37,2% (32/86) das famílias de crianças e adolescentes asmáticos e 64,8% (57/88) das famílias do grupo de não asmáticos recebiam menos de dois salários mínimos. Diferença estatisticamente significativa ($\chi^2_{\text{Yates}} = 12,14$; $p < 0,01$).

Os domicílios das crianças e adolescentes não asmáticos apresentavam maior número de pessoas e maior aglomeração familiar do que os das crianças e adolescentes asmáticos, diferenças estatisticamente significantes ($\chi^2_{\text{Yates}} = 18,77$; $p < 0,01$ e $\chi^2_{\text{Yates}} = 5,02$; $p = 0,03$, respectivamente).

Com relação as variáveis ambientais: abastecimento de água ($\chi^2_{\text{Yates}} = 0,00$; $p = 1,00$), tipo de esgoto ($\chi^2_{\text{Yates}} = 2,87$; $p = 0,09$), destino do lixo ($\chi^2_{\text{Yates}} = 0,95$; $p = 0,33$), não se constatou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de asmáticos e não asmáticos (Tabela 2).

Tabela 2 - Características sócio-econômicas, demográficas e ambientais das famílias das crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis	Grupos				Análise estatística	
	Asmáticos		Não asmáticos			
	n	%	n	%		
Escolaridade materna						
Não sabe ler nem escrever	5	5,6	8	8,9		
Ensino fundamental incompleto	40	44,4	60	66,7		
Ensino fundamental completo ou Ensino médio incompleto	23	25,6	14	15,6	$\chi^2_{\text{Pearson}} = 13,41$	$p < 0,01$
Ensino médio completo ou ensino superior	22	22,4	8	8,9		
Renda familiar per capita (em salários mínimos)						
≤ 0,50	44	51,2	72	81,8	$\chi^2_{\text{Yates}} = 17,04$	$p < 0,01$
> 0,50	42	48,8	16	18,2		
Renda familiar*¹ (em salários mínimos)						
< 2	32	37,2	57	64,8	$\chi^2_{\text{Yates}} = 12,14$	$p < 0,01$
≥ 2	54	62,8	31	35,2		
Pessoas por domicílio						
< 5	57	63,3	27	30,0	$\chi^2_{\text{Yates}} = 18,77$	$p < 0,01$
≥ 5	33	36,7	63	70,0		
Aglomeracão domiciliar (n° de habitantes/n° de cômodos)						
< 1	56	62,2	40	44,4	$\chi^2_{\text{Yates}} = 5,02$	$p = 0,03$
≥ 1	34	37,8	50	55,6		
Abastecimento de água						
Dentro de casa	80	88,9	81	90,0	$\chi^2_{\text{Yates}} = 0,00$	$p = 1,00$
Fora de casa	10	11,1	9	10,0		
Tipo de esgoto						
Rede geral	17	18,9	8	9,0	$\chi^2_{\text{Yates}} = 2,87$	$p = 0,09$
Outros* ²	73	81,1	81	91,0		
Destino do lixo						
Coletado	83	92,2	87	96,7	$\chi^2_{\text{Yates}} = 0,95$	$p = 0,33$
Não coletado	7	7,8	3	3,3		

Nota: *¹ Foram excluídos da análise os dados não informados de quatro asmáticos e dois não asmáticos

*² Refere-se a fossa fechada, fossa aberta e vala aberta

6.1.3 História familiar de doenças atópicas e resposta ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (teste de puntura) para ácaros

A história familiar de doenças atópicas esteve presente em 87,8% (79/90) dos asmáticos e 57,3% (51/89) dos não asmáticos, diferença estatisticamente significativa (χ^2 Yates = 19,40 e $p < 0,01$).

O teste de puntura para ácaros foi positivo em 70% (63/90) das crianças e adolescentes asmáticos e em apenas 11,1% (10/90) das crianças e adolescentes não asmáticos. Essa diferença também foi estatisticamente significativa (χ^2 Yates = 62,31 e $p < 0,01$) (Tabela 3).

Tabela 3 - História familiar de doenças atópicas e resposta ao teste de puntura em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis	Grupos				Análise estatística	
	Asmáticos		Não asmáticos		χ^2 Yates	p
	n	%	n	%		
História familiar de doenças atópicas*¹						
Positiva	79	87,8	51	57,3	19,40	< 0,01
Negativa	11	12,2	38	42,7		
Teste de puntura para ácaros						
Positivo	63	70,0	10	11,1	62,31	< 0,01
Negativo	27	30,0	80	88,9		

Nota: *¹ Foi excluída da análise uma criança sem informação da história familiar de atopia no grupo de não asmáticos.

6.2. Associação entre asma e diâmetro médio da cicatriz de BCG

O diâmetro médio da cicatriz de BCG variou de 2mm a 13mm na população estudada.

Ao categorizar-se o diâmetro médio da cicatriz de BCG em < 5 mm e $= 5$ mm, verificou-se que 31,1% (28/90) das crianças e adolescentes asmáticos tinham o

diâmetro médio de cicatriz < 5mm e 68,9% (62/90) tinham tal diâmetro = 5mm. No grupo de não asmáticos, 12,2% (11/90) tinham o diâmetro médio de cicatriz < 5mm e 87,8% (79/90) = 5mm. As crianças e adolescentes asmáticos demonstraram um risco 3,2 vezes maior de apresentar um diâmetro médio de cicatriz < 5mm do que os não asmáticos (IC 95% = 1,40 - 7,63; p < 0,01) (Tabela 4) (Gráfico1).

Tabela 4 - Diâmetro médio de cicatriz de BCG, subdividido em categorias, em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001

Diâmetro médio da cicatriz de BCG	Grupos				Total		Análise epidemiológica e estatística			
	Asmáticos		Não asmáticos		n	%	OR	IC 95%	C ² Yates	p
	n	%	n	%						
< 5mm	28	31,1	11	12,2	39	21,7	3,24	1,40 - 7,63	8,38	< 0,01
≥ 5mm	62	68,9	79	87,8	141	78,3				
Total	90	50,0	90	50,0	180					

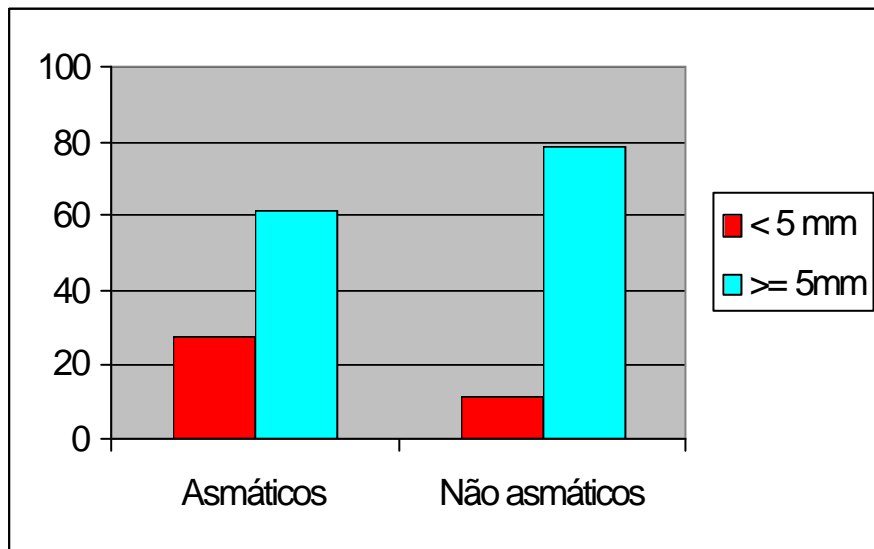


Gráfico 1 - Diâmetro médio de cicatriz de BCG, subdividido em categorias, em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos

No grupo de asmáticos não se observou associação entre a gravidade desta doença e o diâmetro médio da cicatriz de BCG. 31,4% (16/51) e 30,8% (12/39), respectivamente, das crianças e adolescentes com asma leve e moderada/grave, apresentaram um diâmetro médio de cicatriz < 5 mm (OR=1,03; IC95%= 0,38-2,81; p=0,87) (Tabela 5).

Tabela 5 - Diâmetro médio da cicatriz de BCG, segundo a gravidade da asma. Recife - abril a setembro - 2001

Diâmetro médio da cicatriz de BCG	Grupos				Total		Análise epidemiológica e estatística			
	Asma				n	%	OR	IC 95%	C ² Yates	p
	Asma leve		moderada/grave							
	n	%	n	%						
< 5mm	16	31,4	12	30,8	28	31,1	1,03	0,38 - 2,81	0,03	0,87
≥ 5mm	35	68,6	27	69,2	62	68,9				
Total	51	56,7	39	43,3	90					

6.2.1 *Análise de potenciais fatores de confusão*

Analisando-se a distribuição de freqüência das variáveis sócio-econômicas e demográficas entre os grupos com diâmetro de cicatriz <5mm e ≥ 5mm, não se verificou diferença estatisticamente significativa. (Tabela 6).

Tabela 6 - Diâmetro médio da cicatriz de BCG, segundo variáveis sócio-econômicas e demográficas. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis	Diâmetro médio da cicatriz de BCG				Análise estatística	
	< 5mm		≥ 5mm			
	n	%	n	%		
Escolaridade materna						
Não sabe ler nem escrever	2	5,1	11	7,8		
Ensino fundamental incompleto	22	56,4	78	55,3		
Ensino fundamental completo ou Ensino médio incompleto	8	20,5	29	20,0	$\chi^2_{\text{Pearson}} = 0,36$	p = 0,95
Ensino médio completo ou ensino superior	7	17,9	23	16,3		
Renda familiar per capita (em salários mínimos)						
≤ 0,50	21	55,3	95	69,9	$\chi^2_{\text{Yates}} = 2,23$	p = 0,13
> 0,50	17	44,7	41	30,1		
Renda familiar*¹ (em salários mínimos)						
< 2	17	44,7	72	52,9	$\chi^2_{\text{Yates}} = 0,51$	p = 0,48
≥ 2	21	55,3	64	47,1		
Pessoas por domicílio						
< 5	22	56,4	62	44,0	$\chi^2_{\text{Yates}} = 1,43$	p = 0,23
≥ 5	17	43,6	79	56,0		
Aglomeracão domiciliar (n° de habitantes/n° de cômodos)						
< 1	23	59,0	73	51,8	$\chi^2_{\text{Yates}} = 0,38$	p = 0,54
≥ 1	16	41,0	68	48,2		

Nota: *¹ Foram excluídos da análise um e cinco indivíduos, respectivamente, com diâmetro médio da cicatriz de BCG < 5mm e ≥ 5mm, cujos dados não foram informados

Em relação a história familiar de doenças atópicas, verificou-se que 74,4% (29/39) e 72,1% (101/140) das crianças e adolescentes com diâmetro médio da cicatriz de BCG <5mm e =5mm, respectivamente, apresentavam história familiar positiva. Na análise estatística não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com cicatriz <5mm e >5mm quanto a história familiar de doenças atópicas ($\chi^2_{\text{Yates}} = 0,01$; p = 0,94).

Analisando-se a resposta ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata para ácaros, verificou-se que, 51,3% (20/39) e 37,6% (53/141) das crianças com diâmetro médio da cicatriz de BCG < 5mm e = 5mm, respectivamente, apresentavam o teste de puntura para ácaros positivo. Esta diferença não foi estatisticamente significativa (χ^2 Yates = 1,84; p = 0,17) (Tabela 7).

Tabela 7 - Diâmetro médio da cicatriz de BCG em relação a história familiar de doenças atópicas e a resposta ao teste cutâneo de puntura para ácaros. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis	Diâmetro médio da cicatriz de BCG				Análise estatística	
	< 5mm		≥ 5mm		C ² Yates	p
	n	%	n	%		
História familiar de doenças atópicas*¹						
Positiva	29	74,4	101	72,1	0,01	0,94
Negativa	10	25,6	39	27,9		
Teste de puntura para ácaros						
Positivo	20	51,3	53	37,6	1,84	0,17
Negativo	19	48,7	88	62,4		

Nota: *1 Foi excluída da análise uma criança sem informação da história familiar de atopia, no grupo com cicatriz ≥ 5mm.

Encontrou-se uma diferença na distribuição de freqüência dos potenciais fatores de confusão: variáveis sócio-econômicas (escolaridade materna, renda familiar per capita, renda familiar em salários mínimos, pessoas por domicílio e aglomeração domiciliar) e as referentes à atopia (história familiar de doenças atópicas e teste de puntura para ácaros) entre os grupos de estudo (asmáticos) e de comparação (não asmáticos). Embora se tenha observado uma distribuição uniforme destas variáveis quanto à exposição principal (diâmetro médio da cicatriz de BCG), como o critério para que uma variável seja considerada fator de confusão não é apenas estatístico ⁴³ realizou-se análise multivariada (regressão logística) onde se

ajustou o efeito de cada uma das variáveis pelas demais, nestes dois grupos de variáveis (sócio-econômicas - tabela 8; referentes à atopia - tabela 9).

Tabela 8 - Odds Ratio (OR), intervalo de confiança (IC) e valor de p para a associação entre BCG e asma ajustados pelas variáveis sócio-econômicas. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis*1	OR	IC 95%	p
Escolaridade materna			
Não sabe ler nem escrever	1,00*2		
Ensino fundamental incompleto	1,03	0,27 - 3,95	0,96
Ensino fundamental completo ou ensino médio incompleto	2,53	0,58 - 11,03	0,22
Ensino médio completo ou ensino superior	4,04	0,84 - 19,47	0,08
Pessoas por Domicílio			
< 5	3,14	1,57-6,27	< 0,01
≥ 5	1,00*2		
Renda familiar (em salários mínimos)			
< 2	1,00*2		
≥ 2	2,30	1,15 - 4,58	0,02
Diâmetro médio da cicatriz de BCG			
< 5mm	3,48	1,43 - 8,48	< 0,01
≥ 5mm	1,00*2		

Nota: *1 Total de observações = 174

*2 Nível de referência

Retirando-se cada uma destas variáveis do modelo, obteve-se as seguintes estimativas: escolaridade materna - razão de máxima verossimilhança = 9,46, grau de liberdade = 3, valor de p = 0,02; pessoas por domicílio - razão de máxima

verossimilhança = 10,77, grau de liberdade = 1, valor de $p < 0,01$; renda familiar em salários mínimos - razão de máxima verossimilhança = 5,62, grau de liberdade = 1, valor de $p = 0,02$.

Tabela 9 - Odds Ratio (OR), intervalo de confiança (IC) e valor de p para a associação entre BCG e asma ajustados pelas variáveis referentes à atopia. Recife - abril a setembro - 2001

Variáveis ^{*1}	OR	IC 95%	p
História familiar de doenças atópicas			
Positiva	21,76	5,56 - 85,15	< 0,01
Negativa	1,00 ^{*2}		
Teste de puntura para ácaros			
Positivo	47,71	13,71 - 165,95	< 0,01
Negativo	1,00 ^{*2}		
Diâmetro médio da cicatriz de BCG			
< 5mm	4,05	1,49 - 11,00	< 0,01
≥ 5mm	1,00 ^{*2}		

Nota: ¹Total de observações: 179

²Nível de referência

Excluindo-se cada uma destas variáveis do modelo, obteve-se as seguintes estimativas: história familiar de doenças atópicas - razão de máxima verossimilhança = 31,67, grau de liberdade = 1, $p < 0,01$; teste de puntura para ácaros - razão de máxima verossimilhança = 76,56, grau de liberdade = 1, $p < 0,01$.

6.3. Associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico

As crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos não diferiram quanto a reatividade ao teste tuberculínico: 33,7% (30/89) e 34,9% (30/83), respectivamente, apresentaram um diâmetro de endurecimento = 10mm. Não houve associação estatisticamente significativa entre asma e reatividade ao teste tuberculínico (OR=1,11; IC95%=0,56-2,20 e $p = 0,86$), (Tabela 10).

Tabela 10 - Reatividade ao teste tuberculínico em crianças e adolescentes asmáticos e não asmáticos. Recife - abril a setembro - 2001

Teste tuberculínico	Grupos* ¹				Total		Análise epidemiológica e estatística			
	Asmáticos		Não asmáticos		n	%	OR	IC 95%	C ² _{Yates}	p
	n	%	n	%						
< 10mm	59	66,3	53	63,9	112	65,1	1,11	0,56 - 2,20	0,03	0,86
≥ 10mm	30	33,7	30	36,1	60	34,9				
Total	89	51,7	83	48,3	172					

Nota: *¹ Um asmático e sete não asmáticos não concluíram a realização do teste tuberculínico

7. DISCUSSÃO

O objetivo principal foi verificar a existência de associação entre o diâmetro médio da cicatriz de BCG e a presença de asma na população estudada. Este capítulo é iniciado comentando-se esta associação e a seguir os principais fatores confundidores em potencial. Por fim, analisa-se a associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico.

7.1. Associação entre asma e diâmetro médio da cicatriz de BCG

Foram avaliados crianças e adolescentes na faixa etária de 6 a 14 anos e observada uma associação estatisticamente significativa entre o diâmetro médio da cicatriz de BCG e asma. A menor capacidade de resposta do tipo Th1 em indivíduos atópicos têm sido evidenciada em vários estudos^{61,80,90,120}. Shirakawa et al¹¹⁵ estudando a associação entre reatividade tuberculínica e freqüência de doenças atópicas, verificaram que respostas negativas ao teste tuberculínico (diâmetro de endureção < 10mm) associaram-se a uma maior incidência de doenças atópicas. Sendo a imunidade desviada para o fenótipo Th2 uma característica dos indivíduos atópicos, a menor reação ao teste tuberculínico nestes pode representar um marcador de atopia³⁷. Aqueles autores, porém, assumem uma explicação bem diferente da proposta: segundo eles, a exposição e resposta imune frente ao *M. tuberculosis* modificaria o padrão de citocinas do sistema imune e conseqüentemente inibiria o desenvolvimento de doenças atópicas.

Apenas um estudo publicado na literatura revisada¹¹¹, sugere a hipótese de que os asmáticos respondam à vacina BCG com um diâmetro reduzido da cicatriz. Os autores realizaram estudo caso-controle em crianças de 2 a 9 anos e verificaram uma associação estatisticamente significativa entre o diâmetro da cicatriz de BCG < 5 mm e presença de asma. Os resultados são semelhantes aos verificados neste trabalho. Podem ser explicados por uma menor capacidade de resposta a estímulos indutores de clones de linfócitos Th1 (como o BCG) secundária a uma deficiência intrínseca na produção de INF-gamma. Esta já seria evidenciada nos primeiros meses de vida em indivíduos que irão desenvolver asma ou outras doenças atópicas^{67,69,121,129}. Ou seja, a capacidade de resposta a vacina BCG durante a infância estaria atenuada em indivíduos que futuramente manifestarão

doenças atópicas, sugerindo que um retardo na maturação da função Th1 naqueles pode estar relacionado a um defeito específico no reconhecimento e na resposta a sinais microbianos^{47,91}.

Várias pesquisas têm questionado o papel da vacina BCG na prevenção das doenças atópicas, entre estas a asma, com resultados controversos^{1,5,44}. Em estudo sueco não foi observada redução na prevalência de doenças atópicas associada a administração de BCG no primeiro ano de vida entre as crianças nascidas na Suécia. Entretanto, entre as crianças imigrantes, a maioria nascida na Ásia e América do Sul, a imunização com BCG foi associada com uma menor prevalência de doenças atópicas¹²⁰. Uma explicação alternativa para o menor diâmetro médio da cicatriz de BCG verificado em crianças asmáticas seria que nestas a vacina referida foi um estímulo não suficiente para um desvio da imunidade de um fenótipo Th2 para Th1. Talvez a vacina BCG apenas previna o desenvolvimento de doenças atópicas na ausência de uma forte influência genética¹¹⁶. Uma evidência que questiona esta explicação é o fato de que em áreas em que a cobertura vacinal para primeira dose de BCG é de 100%, a exemplo de Pernambuco⁸⁸, a prevalência de asma é elevada¹⁹.

A menor frequência de indivíduos com diâmetro médio de cicatriz < 5mm, tanto no grupo de asmáticos quanto no de não asmáticos, em relação ao estudo anterior realizado por Sarinho e cols¹¹¹, pode ser justificada pela maior faixa etária utilizada nesta pesquisa, uma vez que o diâmetro da cicatriz de BCG parece aumentar com a idade³².

Tem sido proposto que em crianças asmáticas a extensão do defeito na liberação de INF- γ pode encontrar-se relacionada com a gravidade da asma, havendo uma redução progressiva na secreção desta citocina com o aumento da gravidade da doença^{66,82}. Uma vez que as crianças e adolescentes asmáticos nesta pesquisa foram selecionados de um ambulatório especializado em asma, apresentando graus diferentes de gravidade, o que poderia ter introduzido um viés de seleção, avaliou-se o diâmetro médio da cicatriz de BCG segundo a gravidade da doença. Não foi encontrada associação entre a gravidade da asma e o diâmetro médio da cicatriz de BCG. Possivelmente este não foi capaz de expressar essa diferença na secreção de INF- γ nos graus variados de asma. Além disso, o tamanho amostral não foi calculado para esse fim.

O diâmetro da cicatriz de BCG ³², assim como a asma ³⁵, pode ser influenciado ainda pelas variáveis sexo e idade. No entanto, na amostra estudada estas variáveis encontravam-se uniformemente distribuídas entre os grupos de asmáticos e não asmáticos. Este fato sugere que o efeito confundidor para a expressão do fenômeno em questão foi controlado.

Não há um consenso quanto ao papel das condições sócio-econômicas como fator de risco para asma. Há estudos na literatura demonstrando que grupos populacionais de baixa renda apresentam um maior risco para esta doença, tais como, afro-americanos ou hispânicos nos EUA ⁸. Em contrapartida, verificou-se associação entre boas condições sócio-econômicas e elevados níveis de IgE específica para aeroalérgenos em uma população de recrutas italianos. A aglomeração domiciliar demonstrou relação inversa com sensibilização atópica em estudo desenvolvido no leste e oeste europeus em crianças escolares ¹³. Recentes observações de um estudo de coorte alemão sugerem que em populações de países industrializados com estilo de vida ocidental, boas condições sócio-econômicas podem ser consideradas como fator de risco para asma ¹²⁸. O *status* sócio-econômico das famílias mais que um fator de risco é uma medida das características do estilo de vida, que pode compreender hábitos alimentares, tamanho da família, acesso a serviços de saúde, exposição alergênica e outros determinantes ainda desconhecidos ¹²⁶. As crianças e adolescentes asmáticos da pesquisa apresentavam melhores condições sócio-econômicas do que aqueles não-asmáticos, diferenças que foram estatisticamente significantes. Analisou-se, portanto, se estas variáveis poderiam ter influenciado os resultados obtidos no diâmetro médio da cicatriz de BCG, atuando como fator de confusão. As variáveis sócio-econômicas analisadas não demonstraram diferenças estatisticamente significantes na sua distribuição de frequência entre os grupos de exposição e, como estas variáveis influenciaram o desfecho (asma), mas não o fator de exposição (diâmetro da cicatriz de BCG) não seriam fatores de confusão. Confirmou-se este achado na análise de regressão logística.

A história familiar de doenças atópicas é um fator de risco para asma ¹³ e possivelmente para um menor diâmetro da cicatriz de BCG (*proxy* de uma menor produção de interferon-gamma). Do mesmo modo que as variáveis sócio-econômicas aquela não preencheu os critérios para ser considerada uma variável de

confusão, confirmada pela regressão logística. O intervalo de confiança amplo obtido nesta análise deveu-se ao tamanho da amostra, não calculado para esta finalidade, por não se tratar de um estudo exploratório.

Atopia foi um termo inicialmente definido para se referir a condições alérgicas nas quais havia uma tendência a agregação familiar, incluindo rinite alérgica, asma e eczema. Mais recentemente, a atopia tem sido caracterizada pela produção de IgE específica em resposta a alérgenos ambientais comuns, não implicando necessariamente na presença de sintomas, mas apenas uma descrição da reatividade do indivíduo. Os testes cutâneos são instrumentos adequados para o diagnóstico de atopia em estudos epidemiológicos⁸⁴ e segundo Brand et al¹⁴ são melhores preditores de alergia clínica que os níveis de IgE total e específica ou contagem de eosinófilos. Neste estudo considerou-se a positividade ao teste de puntura para ácaros um marcador de atopia. Os ácaros são os principais aeroalérgenos envolvidos na sensibilização alérgica em pacientes asmáticos²⁶ e são também considerados importantes fatores de risco para asma^{76,110}. Baseando-se nestes dados, os testes alérgicos para *D. pteronyssinus*, *D. farinae* e *Blomia tropicalis* foram escolhidos para classificar os indivíduos em dois grupos: atópicos (positivos) e não atópicos (negativos). Desde já, é importante ressaltar que uma limitação prática desta classificação é que o número reduzido de alérgenos testados pode ter subestimado a proporção de indivíduos verdadeiramente atópicos, mas esta possibilidade existiu igualmente nos dois grupos.

No grupo de asmáticos 70,0% (63/90) foram positivos ao teste de hipersensibilidade para ácaros, enquanto no grupo de não asmáticos apenas 11,1% (10/90) foram hipersensíveis aos ácaros, diferença estatisticamente significativa. Porém, quando se analisou a resposta ao teste cutâneo de puntura para ácaros entre os grupos com diâmetro médio da cicatriz $< 5\text{mm}$ e $\geq 5\text{mm}$, não se verificou diferença estatisticamente significativa. Na análise de regressão logística houve uma pequena diferença entre os valores do *odds ratio* não ajustado e ajustado (embora o intervalo de confiança seja amplo), ou seja, a magnitude da associação observada entre asma e diâmetro da cicatriz de BCG foi semelhante e o efeito confundidor da atopia para esta associação foi mínimo. Enfim, neste estudo a resposta deficiente à vacina BCG foi uma característica do asmático independente da presença ou não de atopia, diferentemente do que se esperava. Uma possível explicação para este

achado vem de estudos que demonstram que a asma não atópica não parece ser uma entidade imunopatologicamente distinta da asma atópica^{52,53}. Uma série de estudos de biópsias brônquicas, usando hibridização *in situ* e/ou imunohistoquímica, caracterizam ambas as variantes da doença por: infiltração de eosinófilos e células Th2 secretoras de IL-4 e/ou IL-5; presença de células com receptor de alta afinidade para IgE (FceRI+) e células que expressam RNA mensageiro para cadeia pesada e da IgE. Estas evidências sugerem que as células Th2 podem desempenhar um importante papel na asma não atópica. O fenótipo Th2 caracteriza a asma independente da presença de atopia⁵³. Uma outra explicação plausível para estes achados vem de estudos que sugerem que asma e atopia podem ser herdadas por fatores independentes. Recentes avanços na genética da asma sugerem que genes podem causar suscetibilidade para esta doença por mecanismos diferentes da atopia: influenciando a hiper-responsividade, a inflamação e a reparação tecidual anormal nas vias aéreas^{22,57}. Uma recente revisão sumarizando evidências epidemiológicas de estudos de base populacional, conclui que a proporção de casos de asma que pode ser atribuível a atopia é usualmente inferior a 50%⁸⁴. Mecanismos mais pertinentes às vias aéreas e à estrutura pulmonar, envolvendo a musculatura lisa, a camada de células epiteliais e propriedades mecânicas do trato respiratório podem desempenhar importante papel¹²⁸. Estudo multicêntrico de alergia realizado na Alemanha sugere que o desenvolvimento de asma e atopia, mais do que passos subsequentes de uma manifestação atópica progressiva, correm em paralelo se determinadas influências perinatais ou hereditárias prevalecerem^{55,64}.

7.2. Associação entre asma e reatividade ao teste tuberculínico

Não se verificou associação entre reatividade ao teste tuberculínico e a presença de asma. O ponto de corte de 10mm foi utilizado, a semelhança do estudo realizado por Shirakawa et al¹¹⁵, para eliminar possíveis influências das micobactérias atípicas na resposta Th1 medida através do PPD. Os achados estão de acordo com aqueles obtidos em estudo realizado em crianças na Turquia que encontrou resultados semelhantes de positividade ao teste tuberculínico (≥ 10 mm): 36,9% (atópicos) e 37,4% (não-atópicos)¹³⁵; e, também, com um outro estudo realizado na Alemanha onde não foram observadas diferenças na média do teste

tuberculínico entre crianças atópicas e não atópicas ³⁷. No entanto, a não diferença entre os grupos verificada nestes estudos pode ter como explicação o pequeno tamanho da amostra, não suficiente para demonstrar pequenas diferenças entre aqueles. Os resultados são discordantes, no entanto, daqueles obtidos em estudo realizado em escolares japoneses ¹¹⁵. Sabe-se que a reatividade tuberculínica secundária a BCG administrada nos primeiros meses de vida diminui progressivamente após dois anos da aplicação deste ^{105,108}. Entretanto, quando a vacina é aplicada em uma idade mais tardia maiores reações ao teste tuberculínico têm sido demonstradas. Estas diminuem muito lentamente, com 15% a 25% persistindo por mais de dez anos ⁷⁴. Até que ponto a resposta ao teste tuberculínico obtida nos participantes desta pesquisa e naquele estudo realizado por Shirakawa et al ¹¹⁵ reflete a efetiva sensibilização ao BCG, não pode ser estabelecida.

A cepa de BCG utilizada no estudo Japonês foi a Tokio 172 e no presente estudo a Moreau. Diferenças na imunogenicidade de diferentes cepas foram descritas ⁶², porém na literatura revisada não foi verificada comparação direta da cepa Tokio 172 com a Moreau. Portanto, divergências nas vacinas podem ter contribuído para que fossem observadas tais diferenças na capacidade de resposta do tipo Th1 entre asmáticos e não atópicos apenas no estudo japonês.

Pode-se sugerir que nesta pesquisa houve menor capacidade de resposta imune do tipo Th1 nos indivíduos asmáticos em relação aos não asmáticos, avaliada pelo diâmetro da cicatriz de BCG, em concordância com o estudo realizado por Shirakawa et al ¹¹⁵. No entanto, o mesmo fato não ocorreu quando se avaliou a resposta Th1 através do teste tuberculínico nos grupos estudados. Esta diferença pode ser atribuída ao fato da vacina BCG ser composta por bacilos vivos, apresentando determinantes protéicos mais antigênicos que o PPD - equivalentes a um PPD com 20UT ^{27,107,117}. Outra possível explicação para a não diferença na resposta Th1 entre os grupos estudados quando a avaliação é realizada pelo teste tuberculínico é pelo marco temporal em que se baseia a interpretação dos testes. A cicatriz de BCG possivelmente refletiu a resposta Th1 nas primeiras semanas após a aplicação da vacina. É uma marca no tempo da reação granulomatosa que ocorreu *in vivo*, já nos primeiros meses de vida. O teste tuberculínico avaliou a resposta Th1 que ocorreu nas primeiras 72 horas após a aplicação do estímulo com o PPD, em crianças de seis a quatorze anos de idade.

Pela não relevância da associação entre reatividade ao teste tuberculínico e asma não houve necessidade de realizar controle para prováveis fatores de confusão.

É provável que o diâmetro da cicatriz de BCG seja um mais importante marcador, em relação ao teste tuberculínico, da menor capacidade de resposta Th1 característica dos indivíduos asmáticos, pois detectaria a deficiente produção de interferon gamma tão precocemente, quanto nos primeiros 3 meses de vida. Por outro lado, o teste tuberculínico pode ser modificado por influências externas, não capazes de serem identificadas em um estudo deste tipo.

8. CONCLUSÕES E SUGESTÃO

- Foi observada associação entre o diâmetro médio da cicatriz de BCG e a presença de asma. As crianças e adolescentes asmáticos apresentaram uma maior frequência de diâmetro médio da cicatriz de BCG < 5mm do que os não asmáticos.
- O diâmetro médio de cicatriz de BCG < 5mm pode constituir-se num fator de risco para o desenvolvimento de asma.
- Não houve associação entre reatividade ao teste tuberculínico e asma.
- Existe a necessidade de estudos prospectivos adicionais que proporcionem uma maior consistência a associação entre produção de interferon-gamma, diâmetro médio da cicatriz de BCG e asma.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AABY, P.; SHAHEEN, S.O.; HEYES, C.B.; GOUDIABY, A.; HALL, A.J.; SHIELL, A.W., JENSEN, H.; MARCHANT, A. Early BCG vaccination and reduction in atopy in Guinea- Bissau, **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v.30, p.644-650, 2000.
2. ABBAS, AK.; MURPHY, K.M.; SHER, A. Functional diversity of helper T lymphocytes, **Nature**, London, v.383, p.787-793, 1996.
3. AGARVAL, R.K.; KAPUR, D.; KUMARI, S. Development of BCG scar in relation to the age and nutritional status, **Indian Pediatrics**, New Delhi, v.27, n.3, p.291-293, 1990.
4. AGGARWAL, A. & DUTTA, A.K. Timing and dose of BCG vaccination in infants as assessed by postvaccination tuberculin sensitivity, **Indian Pediatrics**, New Delhi v.32, p.635-639, 1995.
5. ALM, J.S.; LILJA, G, PERSHAGEN, G., SCHEYNIUS, A. Early BCG vaccination and development of atopy. **Lancet**, London, v.350, p.400-403, 1997.
6. AMERICAN THORACIC SOCIETY. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. The tuberculin skin test., **American Review Respiratory Disease**, New York, v.124, p.356-363, 1981.
7. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: **Informação e documentação - referência - elaboração**. Rio de Janeiro: ABNT, 2000.
8. BAENA-CAGNANI, C. E.; PATINÕ, C.M.; NEFFEN, H.E.; CUELLO, M.N. Mite Allergen Sensitization and Exposure in Asthma Patients in Latin America, **Allergy & Clinical Immunology International**, Kirkland, v.11, n.5, p.162-166, 1999.
9. BALL, T.M.; CASTRO -RODRIGUEZ, J.A.; GRIFFITH, K.A.; HOLBERG, C.J.; MARTINEZ, F.D.; WRIGHT, A.L. Siblings, day-care attendance, and risk of asthma and wheezing during childhood, **New England Journal of Medicine**, Boston, v.34, p.538-43, 2000.

10. BERNSTEIN, L & STORMS, WW. Practice parameters for allergy diagnostic testing. **Annals of Allergy Asthma Immunology**, Mclean, v.75, p.543-625, 1995
11. BJÖRKSTEN, B. The intrauterine and postnatal environments, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.104, n.6, p.1119-1127, 1999
12. BORISH, L. & ROSENWASSER, LJ. Update on cytokines. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, Saint Louis, v.97, p.719-733, 1996.
13. BRABACK, L.; BREBOROWICZ, A.; JULGE, K.; KNUTSSON, A.; RIIKJÄRV, M-A.; VASAR, M.; BJÖRKSTÉN, B. Risk factors for respiratory symptoms and atopic sensitization in the Baltic area, **Archives Disease Childhood**, London, v.72, p.487-493, 1995.
14. BRAND, PI; KERSTJENS, H.A.M.; JANSEN, H.M.; KAUFFMAN, H.F.; MONCHI, J.G.R. Interpretation of skin tests to house dust mite and relationship to other allergy parameters in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease, **Journal of Allergy Clinical Immunology**, Saint Louis, v.91, p.560-570, 1993.
15. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Segundo informe técnico sobre vacinação/revacinação BCG**.1.ed.Brasília, DF, 1994, 1p.
16. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Normas para o controle da tuberculose**. Brasília, DF, 1995. 27p.
17. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Manual de Normas de vacinação**. Brasília, DF, 2000, 67p.
18. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. **Calendário de vacinação**, Brasília, DF, 2002. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br>. Acesso em: 22 mar.2002.
19. BRITTO, M.C.A. **Prevalência de asma em escolares do Recife**, 1996. 64 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Materno Infantil). Instituto Materno-Infantil de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
20. BURR, M.L.; BUTLAND, B.K.; KING, S. VAUGHAN-WILLIAMS. Changes in asthma prevalence: two surveys 15 years apart. **Archives of Disease in Childhood**, London, v.64, p.1452-1456, 1989.

21. BUSSE, W.W. & LEMANSKE JR, R.F. Asthma. **New England Journal of Medicine**, Boston, v.344, n.5, p.350-362, 2001.
22. CARABALLO, L. The influence of genes on ethiology of asthma. **Allergy and Clinical Immunology International**, Kirkland, v.11, n.5, 183-189, 1999.
23. CENTERS FOR DISEASE CONTROL. The role of BCG vaccine in the prevention and control of tuberculosis. **MMWR: morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v.45, n.Rr4, 1996.
24. CHER, D.J.; MOSMANN. Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by Th1 clones, **Journal of Immunology**, Baltimore, v.138, n.11, p.3688-3694, 1987.
25. COLAVITA, A.M., REINACH, A.J., PETERS, S.P. Contributing factors to the pathobiology of asthma. The Th1/ Th2 paradigm. **Clinical in Chest Medicine**, Philadelphia, v.21, n.2, p.263-277, june, 2000.
26. CONSENSO BRASILEIRO NO MANEJO DA ASMA, II. **Jornal de Pneumologia**, São Paulo, v.24, n.4, p.171-278,1998.
27. DATTA, T. & SEN, K. BCG versus tuberculin test in the diagnosis of childhood tuberculosis, **Indian Pediatrics**, New Delhi, v.19, p.141-150, 1982.
28. DEL PRETE, G.F.; DE CARLI, M.; MASTROMAURO, C.; BIAGIOTTI, R.; MACCHIA, D.; FALAGIANI, P. Purified protein derivative of *Mycobacterium tuberculosis* and excretory antigen (s) of *Toxocara canis* expand in vitro human T cell with stable and opposite (type 1 T helper or type 2 T helper) profile of cytokine production. **Journal of Clinical Investigation**, New York,v.88, p. 346-50, 1991.
29. EBRAHIM, G.J. & SULLIVAN, K.R. Erros no estudo: causas comuns. In: _____ . **Métodos de pesquisa em saúde materno-infantil**. Recife: Bargaço, 1995, cap.13, p.213-230.
30. FINE, P.E.M. BCG vaccination against tuberculosis and leprosy. **British Medical Bulletin**, London, v.44, n.3, p.691-703, 1988.
31. FIORENTINO, D.F.; BOND, M.W.; MOSMANN TR. Two types of mouse T helper cell.IV. TH2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v.170, p. 2081-2095, 1989.

32. FLOYD, S.; PONNIGHANS, J.M.; BLISS, L.; WARNDORFF, D.K.; KASUNGA, A.; MOGHA, P.; FINE, P.E.M. BCG scars in northern Malawi: sensitivity and repeatability of scar reading, and factors affecting scar size, **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v.4, n.12, p.1133-1142, 2000.
33. FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Normas de apresentação tabular**. Rio de Janeiro: IBGE, 1993.61p.
34. GALAZKA, A.M.; LAUER, B.A.; HENDERSUN, R.H.; KEJA, J. Indications and contra indications for vaccines used in EPI, **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v.62, p. 357-366, 1984.
35. GLOBAL STRATEGY FOR ASTHMA MANAGEMENT AND PREVENTION NHLBL/WHO. WORKSHOP REPORT. NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE, NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, publication n° 953659, 1995, 176p.
36. GORHAM, J.D.; GULER, M.L.; STEEN, R.G.; MACKEY, A.J.; DALY, M.J.; FREDERICK, K.; DIETRICH, W.F.; MURPHY, K.M. Genetic mapping of a murine locus controlling development of T helper 1/ T helper 2 responses. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, v.93, p. 12467-12472, 1996.
37. GRÜBER, C.; KULIG, M.; BERGMANN, R.; GUGGENMOOS-HOLZMANN, I.; WAHN, U. Delayed hypersensitivity to tuberculin, total immunoglobulin E, specific sensitization, and atopic manifestation in longitudinally followed early Bacille-Guérin-vaccinated and nonvaccinated children, **Pediatrics**, Elk Grove Village, v.107, n.03, p.e36, 2001.
38. HARRIS JR; MAGNUS, P; SAMUELSEN, S.O.; TAMBS, K. No evidence for effects of family environment on asthma. A retrospective study of Norwegian twins, **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v.156, p.43-49, 1997.
39. HART, C.A & PARRY, C.M. BCG: Immunization against tuberculosis? **Journal Medical Microbiology**, London, v.44, p. 20-24, 1996.
40. HASANABADI, A.S.; HADI, N.; YAGHOOT, M. Tuberculin reaction and BCG scar in children vaccinated at birth, **Eastern Mediterranean Health Journal**, v.4, n.1, p.21-26, 1998.

41. HENNEKENS, C.H. & BURING, J.E. Analysis of Epidemiologic Studies: Evaluating the role of change. In:_____ **Epidemiology in Medicine**. Boston: Little, Brown, 1988, cap. 10, p.243-271.
42. HENNEKENS, C.H. & BURING, J.E. Case-control studies. In:_____. **Epidemiology in Medicine**. Boston: Little, Brown, 1988, cap.6, p.132-152.
43. HENNEKENS, C.H. & BURING, J.E.. Analysis of Epidemiologic Studies: Evaluating the role of confounding. In:_____. **Epidemiology in medicine**. Boston: Little, Brown, 1988, cap.12, p.287-325.
44. HERZ, U.; GERHOLD, K.; GRÜBER, C.; BRAUN A.; WAHN, U; RENZ, H.; PAUL, K. BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in animal model. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, Saint Louis, v.102, n.5, p.867-874,1998.
45. HILL, J.A.;POLGAR, K.; ANDERSON, D.J. T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion, **Journal of the American Medical Association**, London, v.273,n.24, p.1933-1936, 1995.
46. HOFT, D.F.; LEONARDI, C.; MILLIGAN, T.; NAHASS, G.T.; KEMP, B.; COOK, S.; TENNANT, J.; CAREY, M. Clinical reactogenicity of intradermal Bacille Calmette-Guérin vaccination, **Clinical Infections Diseases**, Saint Louis, v.28, p.785-790, 1999.
47. HOLT P.G.; SLY, P.D.; BJÖRKSTÉN. Atopic versus infections diseases in childhood: a question of balance? **Pediatric Allergy Immunology**, v.8, p.53-58, 1997.
48. HOLT, P.G. A potential vaccine strategy for asthma and allied atopic diseases during early childhood, **Lancet**, London, v.344, p.456-458, 1994.
49. HOLT, P.G. Development immunology and host defense: kinetics of postnatal maturation of immune competence as a potential etiological factor in early childhood asthma, **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, New York, v.151, s.2, S11, 1995.
50. HOPKIN, J.M. Mechanisms of enhanced prevalence of asthma and atopy in developed countries, **Current Opinion Immunology**, London, v.6, p.788-92, 1997.
51. HUEBNER, R.E.; SCHEIN, M.F.; BASS, J.B. The tuberculin skin test. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.17, p.968-75, 1993.

52. HUMBERT, M; DURHAM, S.R.; KIMMITT, P.; POWELL, N.; ASSOULI, B.; PFISTER, R.; MENZ, G.; KAY, A.B.; CORRIGAN, C.J. Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. **Journal of Allergy Clinical Immunology**, Saint Louis, v.99, n.5, p.657-665, may 1997.
53. HUMBERT, M.; MENZ, G.; YING, S.; CORRIGAN, C.J.; ROBINSON, D.S.; DURHAM, S.R.; KAY, A.B. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences, **Immunology Today**, Cambridge, v.20, n.11, p. 528-533, 1999.
54. ILDIRIM, I.; HACIMUSTAFAOGLU, M.; EDIZ, B. Correlation of tuberculin induration with the number of Baccillus Calmette-Guérin vaccines, **Pediatrics Infectious Diseases Journal**, v.14, p.1060-1063, 1995.
55. ILLI, S.; VON MUTIUS, E.; LAU, S.; BERGMANN, R.; NIGGEMANN, B.; SOMMERFELD, C.; WAHN, U.; MAS GROUP. Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: a birth cohort study, **British Medical Journal**, London, v.322, p.390-395, 2001.
56. JUTEL, M.; PICHLER, W.J.; SKRBIC, D.; URWYLER, A.; DAHINDEN, C.; MULLER, UR. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of INF-g secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. **Journal of Immunology**, Baltimore, v.54, p.4187-94, 1995.
57. KAY, A.B. Allergy and allergic diseases. First of two parts, **New England Journal of Medicine**, Boston, v.344, n.1, p.30-37, 2001.
58. KEMP, E.B.; BELSH, R.B.; HOFT, D.F. Immune responses stimulated by percutaneous and intradermal Bacille Calmette-Guérin. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.174, p.113-9, 1996.
59. KOEPPEN-SCHOMERUS, G.; STEVENSON, J.; PLOMIN, R. Genes and environment in asthma: a study of 4 year old twins, **Archives Disease Childhood**, London v.85, p.398-400, 2001.
60. KRÄMER, U.; HEINRICH, J.; WIJST, M.; WICHMANN, H.E. Age of entry to day nursery and allergy in later childhood, **Lancet**, London, v.352, p.450-454, 1998.
61. KRÖGER, L.; KORPPI, M.; PELKONEN, J.; PIETIKÄINEN, M.; KATILA, M.L. Development of tuberculin reactivity and sensitization to *M. Scrofulaceum* and *M.*

- fortuitum* in children BCG-vaccinated at birth, **European Respiratory Journal**, Copenhagen, v.15, p.382-387, 2000.
62. LAGRANDERIE, M.R.R.; BALAZUC, A.M.; DERIAUD, E.; LECLERC, C.D.; GHEORGHIU, M. Comparasion of immune responses of mice immunized with five different *Mycobacterium bovis* vaccine strains, **Infection and Immunity**, Washington, v.64, p.1-9, 1996.
63. LAKHKAR, B.B. Neonatal BCG vaccination and scar sucess, **Indian Pediatrics**, New Delhi, v.32, n.12, p. 1323, 1995.
64. LAU, S.; ILLI, S.; SOMMERFELD, C.; NIGGEMANN, B.; BERGMANN, R.; VON MUTIUS, E.; WAHN, U. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study, **Lancet**, London, v.156, p.1392-1397, 2000.
65. LEE, S.M.; SUEN, Y.; CHANG, L.; BRUNER, V.; QIAN, J.; INDES, J. Decreased IL-12 from activated cord versus adult peripheral blood mononuclear cells and upregulation of INF- γ , NK and LAK activity by IL-12 in cord blood mononuclear cells. **Blood**, Duluth, v.88, p. 945-954, 1996.
66. LEONARD, C.; TORMEY, V.; BURKE, C.; POULTER, L.W. Allergen-induced cytokine production in atopic disease and its relationship to disease severity, **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v.17, p.368-375, 1997.
67. LIAO, S.Y.; LIAO, T.N.; CHIANG, B.L.; HUANG, M.S.; CHEN, C.C.; CHOU, C.C.; HSIEH, K.H. Decreased production of INF- γ and increased production of IL-6 by cord blood mononuclear cells of newborns with a high risk of allergy, **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v.26, p.397-405, 1996.
68. MARCHANT, A.; GOETGHEBUER, T.; OTA, M.O.; WOLFE, I.; CEESAY, S.J.; GROOTE, D.; CORRAH, T.; BENNET, S.; WHEELER, J.; HUYGEN, K.; AABY, P.; CADAM, K.P.W.J.; NEWPORT, M.J. Newborns develop a Th1-type immune response to *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin vaccination, **Journal of Immunology**, Baltimore, v.163, p.2249-2255, 1999.
69. MARTINEZ, F.D. Role of viral infections in the inception of asthma and allergies during childhood: could they be protective?, **Thorax**, London, v.49, p. 1189-1191, 1994.

70. MARTINEZ, F.D., STERN, D.A., WRIGHT, A.L., HOLBERG, C.J., TAUSSIG, L.M., HALONEN, M. Association of interleukin-2 and interferon- γ production by blood mononuclear cells infancy with parenteral allergy skin tests and with subsequent development of atopy, **Journal of Allergy Clinical Immunology**, Saint Louis, v.96, p. 652-660, 1995.
71. MATRICARDI, P.M.; ROSMINI, F.; FERRIGNO, L.; NISINI, R.; RAPICETTA, M.; CHIONNE, P.; STROFFOLINI, T.; PASQUINI, P.; D'AMELIO, R. Cross sectional retrospective study of prevalence of atopy among Italian military students with antibodies against hepatitis a virus, **British Medical Journal**, v. 314, p.999-1003, 1997.
72. MATRICARDI, P.M.; ROSMINI, F.; RIONDINO, S.; FORTINI, M.; FERRIGNO, L.;RAPICETTA, M.; BONINI, S. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study, **British Medical Journal**, London, v.320, p.412-417, 2000.
73. MAZZARELLA, G.; BIANCO, A.; CATENA, E.; PALMA, R.; ABBATE, G.F. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. **Allergy**, Copenhagen, v.55, suplem. 61, p.6-9, 2000.
74. MENZIES, R. & VISSANDJEE, B. Effect of Bacille Calmette-Guerin vaccination on tuberculin reactivity, **American Review Respiratory Disease**, New York, v.145, p.621-625, 1992.
75. MILTIEN, J.B.& GIBSON, J.J. Quality control of BCG vaccine by WHO: a review of factors that may influence vaccine effectiveness and safety, **Bulletin World Health Organization**, Geneva, v.68, n.1, p.93-108, 1990.
76. MORAES, L.S.L.; BARROS, M.D.; TAKANO, O.A.; ASSAMI, N.M.C. Fatores de risco, aspectos clínicos e laboratoriais da asma em crianças, **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.77, n.6, p.447-454, 2001.
77. MOSMANN, T.R, CHERWINSKI, H., BOND, M.W., GIEDLI, M.A, COFFMAN, R.L. Two types of murine T cell clone, I: definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **Journal of Immunology**, Baltimore, v.136, p. 2348-57, 1986.
78. NAFSTAD, P.; MAGNUS, P.; JAAKKOLA, J.K. Early respiratory infections and childhood asthma, **Pediatrics**, Elk Grove Village, v. 106: E38, 2000.

79. NIEMINEN, M.M; KAPRIO, J.; KOSKENVUO. A population-based study of bronchial sthma in adult twin pairs, **Chest**, Northbrook, v. 100, p.70-75, 1991.
80. NILSSON, L.; KJELLMAN, NIM; BJÖRKSTÉN, B. A randomized controlled trial of the effect of pertussis vaccines on atopic disease, **Archieves of Pediatrics & Adolescent Medicine**, Chicago, v.152, p.734-738, 1998.
81. NINAN, T.K.; RUSSEL, G.. Respiratory symptoms and atopy in Aberdeen schoolchildren: evidence from two surveys 25 years apart. **British Medical Journal**, London, v. 304, p.873-5, 1992.
82. NURSE, B.; HAUS, M.; PUTERMAN, A.S.; WEINBERG, E.G.; POTTER, P.C. Reduced interferon- γ but normal IL-4 and IL-5 release by peripheral blood mononuclear cells from Xhosa children with atopic asthma, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.100, n.5, p.662-668, 1997.
83. OMRAN, M. & RUSSEL, G., Continuing increase in respiratory symptoms and atopy in Aberdeen schoolchildren, **British Medical Journal**, London, v.312, p. 661-665, 1996.
84. PEARCE, N.; PEKKANEN, J.; BEASLEY, R. How much asthma is really attributable to atopy?, **Thorax**, London, v.54, p.268-272, 1999.
85. PEAT, J.K.; VAN DEN BERG, R.H.; GREEN, W.F.;MELLIS, C.M.; STEPHEN, R.L., WOOLCOCK. Changing prevalence of asthma in Australian children. **British Medical Journal**, London, v.308, p.1591-1596,1994.
86. PEREIRA, M.G. Seleção dos participantes para estudo. In: **Epidemiologia Teoria e Prática**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1995, cap.16, p.337-357.
87. PEREIRA, S.M. **Efetividade da 1ª dose da vacina BCG em crianças contra tuberculose em Salvador. 1990-1999**. Salvador: Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia. 2000, 158p. (Tese, doutorado em Saúde Coletiva).
88. PERNAMBUCO (Estado). Secretaria Estadual de Saúde. Programa Nacional de Imunizações. **Cobertura Vacinal de BCG**, 1990-1999.
89. PONSONBY, AL; COUPER, D.; DWYER,T.; CARMICHAEL, A.; KEMP, A. Relationship between early life respiratory illness, family size over time, and the development of asthma and hay fever: a seven year follow up study, **Thorax**, London, v. 54, p.664-669, 1999.

90. PRESCOTT, S.L.; MACAUBAS, C.; HOLT, B.J.; SMALLACOMBE, T.B.; LOH, R.; SLY, P.D.; HOLT, P.G. Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile, **Journal of Immunology**, Baltimore, v.160, p.4730-37, 1998.
91. PRESCOTT, S.L., MACAUBAS, C., SMALLACOMBE, T., HOLT, B.J., SLY, P.D., HOLT, P.G. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children, **Lancet**, London, v.353, p. 196-200, 1999.
92. PRESCOTT, S.L.; SLY, P.D.; HOLT, P.G. Raised serum IgE associated with reduced responsiveness to DPT vaccination during infancy, **Lancet**, London v.351, p.1489, 1998.
93. RAGHUPATHY, R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy, **Immunology Today**, Cambridge, v.18, n.10, 1997
94. RAVN, P.; BOESEN, H.; PEDERSEN, B.K.; ANDERSEN, P. Human T cell responses induced by vaccination with *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin, **Journal of Immunology**, Baltimore, v.158, p.1949-1955, 1997.
95. RENAULD, J.C. New insights into role of cytokines in asthma. **Journal Clinical Pathology**, London, v.54, n.8, p. 577-589, 2001.
96. RIZZO, M.C. O impacto do meio ambiente no trato respiratório, **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.74, s.1, S12-S20, 1998.
97. RIZZO, M.C.F.V.; ARRUDA, L.K.; CHAPMAN M.D.; FERNANDEZ-CALDAS, E.; BAGGIO, D.; PLATTS-MILLS, T.A.E. IgG and IgE antibody responses to dust mite allergens among children with asthma in Brasil, **Annals Allergy**, Mclean, v.71, p.152-158, 1993.
98. ROBINSON, D.S.; HAMID, Q.; YING, S.; TSICOPOULOS, A.; BARKANS, J.; BENTLEY, A.M.; CORRIGAN, C.; DURHAM, S.R.; KAY, B. Predominant Th2 - like bronchoalveolar T- lymphocyte population in atopic asthma, **New England Journal of Medicine**, Boston v.126, n.5, p.298-304, 1992.
99. ROMAGNANI, S.. The TH1/TH2 paradigm. **Immunology Today**, Cambridge, v.18, n.6, p.263-266, 1997.
100. ROMAGNANI, S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). **Annals of Allergy, Asthma, & Immunology**, Mclean, v.85, p. 9-21, 2000 a.

101. ROMAGNANI, S. The role of lymphocytes in allergic disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.105, p.399-408, 2000b.
102. RUFFINO-NETTO, A, SOUZA, A.M.A.F. Reforma do setor saúde e controle da tuberculose no Brasil. **Informe Epidemiológico do SUS**, Brasília, v.8, n.4, p 35-51, 2000.
103. RYAN, J.J. Interleucin-4 and its receptor: Essencial mediators of the allergic response. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St Louis, v.99, p.1-5, 1997.
104. SAKULA, A. BCG: Who were Calmette and Guérin? **Thorax**, London, v.38, p.806 - 812, 1983.
105. SANT'ANNA, C.C. Tuberculose. In: **Doenças Pulmonares em Pediatria: diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. p 277-287.
106. SARAFAFINO, E.P.; GOLDFEDDER, J. Genetic factors in the presence, severity, and triggers of asthma, **Archives Diseases Childhood**, London, v.73, p.112-116, 1995.
107. SARINHO, E.S.C. **Valor do BCG-teste no diagnóstico da tuberculose infantil**. Recife: Departamento Materno Infantil do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, 1988.82p. (Dissertação, Mestrado em Pediatria).
108. SARINHO, E.S.C.; AGUIAR FILHO, A.S.; SILVA, A.M.R. Pode-se utilizar o teste tuberculínico em crianças vacinadas com BCG?, **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.70, n.2, p.91-94, 1994.
109. SARINHO, E.; FERNANDEZ-CALDAS, E.; JUAST, E.; SOLÉ, D. Ácaros da poeira domiciliar em residências de crianças asmáticas e controles da cidade de Recife-Pernambuco, **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v.19, p.228-230, 1996.
110. SARINHO, E.S.C. **Hipersensibilidade aos ácaros da poeira domiciliar em pacientes asmáticos**: estudo de caso-controle em escolares. Recife: Departamento Materno Infantil do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, 1998.83p. (Tese, Doutorado em Medicina).

111. SARINHO, E.; SCHOR, D.; VELOSO, M.; LIMA, M. BCG scar diameter and asthma: a case control study, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.106, n.6, p.1199-1200, 2000.
112. SECRIST, H.; CHELEN C.J.; WEN, Y.; MARSHAL, J.D.; UMETSU, D.T. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells form allergic individuals, **Journal Experimental Medicine**, New York, v.178, p.2130-30, 1993.
113. SEPULVEDA, R.L.; FERRER, X.; LATRACH, C.; SORENSEN, R.U. The influence of Calmette-Guerin Bacillus Immunization on the booster effect of tuberculin testing in healthy young adults, **American Review Respiratory Disease**, New York, v.142, p. 24-28, 1990.
114. SHAHEEN, S.O.; AABY, P.; HALL, A.J.; BARKER, D.J.P.; HEYES, C.B.; SHIELL, A.W.; GOUDIABY, A. Measles and atopy in Guinea-Bissau, **Lancet**, London, v.347, p.1792-1796, 1996.
115. SHIRAKAWA, T.; ENOMOTO, T.; SHIMAZU, S.; HOPKINJ.M. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. **Science**, Washington, v.275, p.77-79, 1997.
116. SILVERMAN, M. BCG vaccination and atopy - unfinished business?, **Lancet**, London, v.350, p.380-381, 1997.
117. SNIDER JR, SE. Bacille Calmette-Guerin vaccinations and tuberculin test, **Journal of the American Medical Association**, London, v.253. v.23, p.3438-9, 1985.
118. SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALERGIA E IMUNOPATOLOGIA. COMISSÃO DE TESTES, IMUNOTERAPIA E PADRONIZAÇÃO DE ANTÍGENOS. Testes cutâneos em alergia, **Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, São Paulo, v.23, n.4, p.134-136, 2000.
119. STRACHAN, D.P. Hay fever, hygiene and household size, **British Medical Journal**, London, v.1299, p.1259-60, 1989.
120. STRANNEGARD, I.L., LARSSON, L.O., WENNERGREN, G., STRANNEGARD, Ö. Prevalence of allergy in children in relation to prior BCG vaccination and infection with atypical mycobacteria. **Allergy**, Copenhagen, v.53, p. 249-254, 1998.

121. TANG, M.L.K.; KEMP, A.S.; THORBURN, J.; HILL, D.J. Reduced interferon- γ secretion in neonates and subsequent atopy, **Lancet**, London, v.344, p.983-985, 1994.
122. TANTISIRA, K.G.; WEISS, S.T. Childhood infections and asthma: at the crossroads of the hygiene and Barker hypotheses, **Respiratory Research**, v. 2, p.324-327, 2001.
123. THE INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGIES IN CHILDHOOD (ISAAC). Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC, **Lancet**, London, v.351, p.1225-1232, 1998.
124. UMETSU, D.T. & DEKRUYFF, R.H. Th1 and Th2 CD4+ cells in human allergic diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.100, n.1, p.1-6, 1997.
125. UYAN, A.P.; BASKIN, E.; BÜYÜKBESE, E.; GOKALP. Evaluating Bacillus Calmette Guerin vaccination by tuberculin skin test response, **Indian Pediatrics**, New Delhi, v.37, p.1106-1110, 2000.
126. VON MUTIUS, E. The environmental predictors of allergic disease, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.105, n.1, 2000.
127. VON MUTIUS, E.; MARTINEZ, F.D.; FRITZSCH, C.; NICOLAI, T.; REITMEIR, P.; THIEMANN, H.H. Skin test reactivity and number of siblings, **British Medical Journal**, London, v.308, p.692-695, 1994.
128. WAHN, U.; VON MUTIUS, E. Childhood risk factors for atopy and the importance of early intervention, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.107, n.4, 2001.
129. WARNER, J.A.; MILES, E.A.; JONES, A.C.; QUINT, D.J.; COLWELL, B.M.; WARNER, J.O. Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema?, **Clinical Experimental Allergy**, Oxford, v.24, p.423-430, 1994.
130. WEGMANN, T., LIN, H., GULBERT, L., MOSMANN, T. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? **Immunology Today**, Cambridge v.14, p.353-356, 1993.

-
131. WEISS, K.B.; SULLIVAN, S.D.; LYTTLE, C.S. Trends in the cost of illness for asthma in the United States, 1985-1994, **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v.106, n.3, p.493-499, 2000.
 132. World Health Organization. BCG vaccination policies. **Report of a WHO study group**. WHO Tech.rep. Ser., n.652, 1980.
 133. WIERENGA, E.A; SNOCK, M.; DE GROOT, C.; CHRETIEN, I; BOS, J.D; JANSEN, H.M. Evidence for compartmentalization of functional subsets of CD4+ lymphocytes in atopic patients. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 144, p. 4651-6, 1990.
 134. WILLS-KARP, M.; LUYIMBAZI, J.; XU, X.; SCHOFIELD, B.; NEBEN, T.Y.; KARP, C.L.; DONALDSON, D.D. Interleukin-13: Central mediator of allergic asthma. **Science**, Washington, v.282, p. 2258-2261, 1998.
 135. YILMAZ, M.; BINGOL, G.; ALTINTAS, D.; KENDIRLI, S.G. Correlation between atopic diseases and tuberculin responses, **Allergy**, Copenhagen, v.55, p.664-667, 2000.

10. ANEXOS

Anexo A - Formulário de triagem

Anexo B - Consentimento livre e esclarecido

Anexo C - Formulário para coleta de dados

10.1. ANEXO A**Formulário de triagem****Pesquisa: Diâmetro médio da cicatriz de BCG em crianças e adolescentes asmáticos**

- 1) Nome _____
- 2) Idade _____
- 3) Data de nascimento ____/____/____
- 4) Procedência: 1-() Abreu e Lima 2- () Araçoiaba 3- () Cabo 4-() Camaragibe 5-() Igarassu 6-() Ipojuca 7-() Itamaracá 8-() Itapissuma 9-() Jaboatão 10-() Moreno 11-() Olinda 12-() Paulista 13-() Recife 14-() São Lourenço da Mata 99- () não informado
- 5) Nos últimos 12 meses a criança teve no mínimo três episódios de dispnéia (cansaço) aliviados com o uso de broncodilatador (salbutamol, fenoterol, brometo de ipratrópio, aminofilina, terbutalina) ?
Sim () Não ()
- 6) Medicações em uso: _____

- Data de início ____/____/____
Tempo de uso _____
- 7) Doenças associadas _____
- 8) Seu filho vacinou-se para sarampo, rubéola, caxumba ou pólio oral nos últimos 30 dias ?
Sim () Não ()
- 9) Criança, pai , mãe e irmãos apresentam/ apresentaram alguma vez na vida :
- (1) Asma?
- Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
- (2) Chiado no peito? (cansaço, sibilos, piado)
- Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado ()
Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado ()

(3) Três ou mais episódios de chiado no peito (cansaço, sibilos, piado) aliviados com o uso de broncodilatador?

Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado

Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado

Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado

Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado

(4) Rinite alérgica?

Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado

Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado

Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado

Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado

(5) Coriza, espirros, coceira no nariz ou nariz entupido, sem estar resfriado ou gripado?

Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado

Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado

Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado

Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado

(6) Eczema ou dermatite atópica?

Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado

Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado

Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado

Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado

(7) Manchas com coceira na pele que apareciam e desapareciam por pelo menos seis meses?

Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado

Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado

Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado

Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado

(8) Manchas na pele, com coceira afetando as regiões de dobras: nos joelhos, frente dos tornozelos, abaixo das nádegas, em volta do pescoço, orelha e olhos?

Criança 1- sim () 2-não () 9- não informado

Pai 1- sim () 2-não () 9- não informado

Mãe 1- sim () 2-não () 9- não informado

Irmãos 1- sim () 2-não () 9- não informado

10) Vacina BCG nos primeiros 3 meses de vida: Sim () Não ()

11) Exame físico do aparelho respiratório - em crise: Sim () Não ()

10.2. ANEXO B

Consentimento livre e esclarecido

10.3. Pesquisa: Diâmetro médio da cicatriz de BCG em crianças e adolescentes asmáticos

ROSÂNGELA DE MELO QUEIROZ, pediatra, está realizando uma pesquisa sobre a relação entre o tamanho da cicatriz da vacina BCG e asma, em crianças de 6 a 14 anos. Gostaria que seu filho(a) participasse da mesma e para isso precisa de sua autorização.

As crianças que participarem desta pesquisa serão pesadas, medidas, terão o diâmetro da cicatriz da vacina BCG medido, farão testes alérgicos para detectar alergia a poeira doméstica e testes intradérmicos com tuberculina ; as reações locais que podem ocorrer com estes testes são dor, irritação local, desconforto, coceira e vermelhidão na pele e as reações sistêmicas como urticária e sintomas respiratórios são raros. Estes procedimentos são rotineiramente feitos na clientela deste ambulatório. Utilizaremos na pesquisa os resultados dos exames e também as respostas dos formulários aplicados aos adultos responsáveis que estiverem acompanhando as crianças. Estes dados serão mantidos em sigilo pela pesquisadora.

A participação nesta pesquisa é voluntária, seu filho participa se você quiser, participando ou não, seu atendimento será o mesmo. Também é seu direito desistir em qualquer etapa da pesquisa.

Declaração do paciente

Tendo sido lido por mim ou por um acompanhante que me fez entender todo o texto, autorizo meu filho _____ a participar da referida pesquisa.

Recife, ___/___/___

Assinatura ou impressão digital da mãe ou adulto responsável

Assinatura da 1ª testemunha

Assinatura da 2ª testemunha

Assinatura da médica responsável

10.4. ANEXO C

PESQUISA: Diâmetro médio da cicatriz de BCG em crianças e adolescentes asmáticos

Data do atendimento: ___/___/___

Registro no SAME: _____

10.4.1 I - IDENTIFICAÇÃO DA CRIANÇA**1-Nome:**

2-Data de nascimento: ___/___/___ Idade em anos: ___ 2-[]

3-Sexo: 1- () feminino 2- () masculino 3-[]

4-Procedência: 1 - () Abreu e Lima 2 - () Araçoiaba 3 - () Cabo 4 - () Camaragibe

4-[]

5 - () Igarassu 6 - () Ipojuca 7 - () Itamaracá 8 - () Itapissuma

9 - () Jaboatão 10 - () Moreno 11 - () Olinda 12 - () Paulista 13 - () Recife

14 - () São Lourenço da Mata 99 - () não informado

Endereço: _____

Telefone: _____

10.4.2 II – PERGUNTAS SOBRE CONDIÇÕES DE VIDA

5-Qual a idade da mãe da criança? _____ 99 - () não informado 5-[]

6-Qual o nível de instrução da mãe da criança? 1 - () analfabeta 6-[]

2 - () primeiro grau incompleto – série: _____

3 - () primeiro grau completo

4 - () segundo grau incompleto – série: _____

5 - () segundo grau completo

6 - () superior incompleto – curso: _____

7 - () superior completo – curso: _____

9 - () não informado

7-Quantos irmãos mais velhos tem seu filho (a) _____ 7-[]

8-Quantos irmãos mais novos tem seu filho (a)? _____ 8-[]

9-Qual a ordem de nascimento de seu filho (a)? _____ 9-[]

10- Quantas pessoas moram na casa? _____ crianças _____ adultos _____ 10-[]

total = _____ 99 – () não informado

11- No mês passado, quanto foi a renda familiar ? 11-[]

valor total = _____ 9999 – () não informado

12- Renda per capita: _____ 9 – () não informado 12-[]

13- Qual o tipo de construção da casa? 13-[]

- 1 – () alvenaria 2 – () taipa
3 – () madeira 4 – () outros _____
9 – () não informado

14- Qual o tipo de residência? 14-[]

- 1 – () própria 2 – () alugada
3 – () de parentes 4 – () outras _____
9 – () não informado

15- Quantos cômodos têm a sua casa? _____ 99 – () não informado 15-[]

16- Aglomeração domiciliar = item 10 dividido pelo item 15 = ____ 16-[]

17- Como é o abastecimento de água na habitação? 17-[]

- 1 – () rede geral com canalização interna 2 – () rede geral com canalização externa
3 – () canalização interna com outras fontes 4 – () outros
9 – () não informado

18- Qual o tipo de esgoto da habitação? 18-[]

- 1 – () vala aberta 2 – () fossa aberta
3 – () fossa fechada 4 – () rede geral
9 – () não informado

19- A casa tem luz elétrica? 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 19-[]

20- Quais dos seguintes bens de consumo você possui em casa?

Rádio 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 20- []

TV 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Geladeira 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Fogão a gás 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Telefone 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Carro 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

21- Qual o destino do lixo? 21-[]

- 1 – () coletado 2 – () queimado
3 – () enterrado 4 – () depositado em terreno baldio
5 – () outros _____

22- Existe alguma das seguintes fontes poluidoras próximas à residência?

depósito de lixo 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 22-[]

canal 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

esgoto 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

terreno abandonado 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

outros 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

23- Existe algum dos seguintes animais em casa?

Cão 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 23-[]

Gato 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Aves 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Outros 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado _____ []

24- Há pessoas fumando dentro de casa, nos últimos 3 meses?

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 24-[]

25- Em caso afirmativo à questão 24, fumam em casa:

Mãe 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 25-[]

Pai 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Irmãos 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Outros 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado _____ []

26- Você tem notado presença de baratas no domicílio, nos últimos 6 meses? 26-[]

1 – () não 2 – () raramente

3 – () freqüentemente 9 – () não informado

27- Você tem feito uso de inseticida nos últimos 6 meses? 27-[]

1 – () não 2 – () raramente

3 – () freqüentemente 9 – () não informado

Se positivo, qual produto? _____

28- Você nota presença de ratos na casa ou arredores nos últimos 6 meses? 28-[]

1 – () não 2 – () raramente

3 – () freqüentemente 9 – () não informado

III – PERGUNTAS REFERENTES A BCG E TUBERCULOSE DOENÇA

29- Qual o peso da criança ao nascimento? _____g 9999 – () não informado 29-[]

30- Peso da criança ao nascer visto no cartão de vacinas _____g 30-[]

9999 – () não informado

31- Seu filho já teve tuberculose? 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 31-[]

32- Seu filho já teve contato com alguém com tuberculose? (dentro de casa ou com alguma pessoa que freqüenta sua casa)

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 32-[]

33- Seu filho já teve contato com pessoa (dentro de casa ou que freqüenta sua casa)

com doença de pulmão ou tosse crônica* que tomava remédio dado no posto todo 33-[]

mês (por 6 meses)? *tosse por mais de um mês

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

Data BCG 1 _____

Data BCG 2 _____

IV – PERGUNTAS SOBRE ASMA E OUTRAS DOENÇAS ALÉRGICAS

34- Com que idade seu filho cansou pela primeira vez? **34-[]**

1 – () no primeiro ano de vida 2 – () no segundo ano de vida

3 – () entre 2 e 5 anos 4 – () entre 6 e 10 anos

5 – () entre 11 e 14 anos 9 – () não informado

35- Quantas crises de asma seu filho teve nos últimos três meses? ____ 99- () não informado **35-[]**

36- Com que frequência seu filho apresentou os seguintes sintomas (chiado, aperto no peito, falta de ar, tosse), nos últimos 3 meses? **36-[]**

1 – () não apresentou 2 – () apenas com exercício

3 – () = duas vezes/semana 4 – () > duas vezes por semana, não contínuos

5 – () contínuos 9 – () não informado

37- Houve restrição das atividades habituais* de seu filho nos últimos 3 meses, devido à asma **37-[]**

* Ir à escola, brincar

1 – () nenhuma 2 – () raramente

3 – () freqüentemente 9 – () não informado

38- Quantos dias de aula seu filho perdeu nos últimos 3 meses escolares, **38-[]**

devido à asma?_____99 – () não informado

39- Qual a duração da maioria das crises de asma de seu filho (em horas)? **39-[]**

_____999 – () não informado

40-No tratamento das crises de asma seu filho há necessidade de usar corticóide*oral/parenteral **40-[]**

*dexametasona/prednisona/prednisolona/deflazacort/betametasona/hidrocortisona

1 – () nunca 2 – () raramente

3 – () freqüentemente 4 – () todas as vezes

9 – () não informado

41- Quantas vezes, nos últimos 3 meses, seu filho teve o sono interrompido por cansaço/falta de ar/chiado no peito/tosse seca? **41-[]**

1 – () nenhuma 2 – () = duas vezes/mês

3 – () < duas vezes/semana e > 2 vezes/mês 4 – () = duas vezes/semana

9 – () não informado

42-Seu filho apresentou tosse/cansaço/chiado no peito/falta de ar quando fez atividades físicas nos últimos 3 meses? **42-[]**

1 – () não apresentou

2 – () sim, com exercícios leves como andar e correr curtas distâncias

3 – () sim, apenas com exercícios mais pesados, como correr longas distâncias e práticas esportivas

9 – () não informado

43- Com que frequência seu filho fez uso de broncodilatador* para alívio, nos últimos 3 meses? **43-[]**

*salbutamol/fenoterol/terbutalina/xantinas

1 – () < duas vezes por semana

2 – () > duas vezes/semana e < duas vezes/dia

3 – () ≥ duas vezes/dia

9 – () não informado

44- Foi prescrita alguma (s) das seguintes medicações preventivas nos últimos 12 meses ?

Cetotifeno – () sim 2 – () não 9 – () não informado

44-[]

Xantinas 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

[]

Nedocromil de sódio 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

[]

Cromoglicato de sódio 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

[]

B2 de ação prolongada 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado []

Anti-leucotrienos 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

[]

Corticóide inalatório 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

[]

Corticóide oral 1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

[]

Especificar

as

drogas _____

posologia _____

início do tratamento _____

45- Se faz uso de corticóide inalatório, a dose é, atualmente:

45-[]

1 – () baixa 2 – () média

3 – () alta 9 – () não informado

46- Cumpre o tratamento?

46-[]

1 – () regularmente 2 – () irregularmente

3 – () não cumpre 9 – () não informado

47- Seu filho internou-se devido à asma nos últimos 12 meses?

47-[]

*Permanência hospitalar por período = 12 horas

1 – () sim 2 – () não 99 – () não informado

48- Se sim, quantas vezes seu filho foi internado* por asma nos últimos 12 meses? _____ 48-[]

*Permanência hospitalar por período = 12 horas

99 – () não informado

49- Nos últimos 3 meses seu filho foi atendido em emergências por motivo de asma?

49-[]

1 – () sim 2 – () não 99 – () não informado

50- Se sim, quantas vezes seu filho foi atendido em emergências, por motivo de asma,

nos últimos 3 meses? _____ 99 – () não informado

50-[]

51- Alguma vez seu filho foi internado em UTI, por motivo de asma?

51-[]

1 – () sim 2 – () não 99 – () não informado

52- Se sim, quantas vezes seu filho foi internado em UTI, por motivo de asma? _____

52-[]

99 – () não informado

53- Seu filho alguma vez teve problema com espirros, coriza, coceira no nariz ou nariz entupido sem ter gripe ou resfriado?

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado

53-[]

54- Nos últimos 12 meses seu filho teve problema de espirros, coriza, coceira no nariz ou nariz entupido sem ter gripe ou resfriado?

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 8 – () não se aplica **54-[]**

55- Nos últimos 12 meses, seu filho teve problema no nariz acompanhado de lacrimejamento ou coceira nos olhos?

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado 8 – () não se aplica **55-[]**

56- Alguma vez na vida seu filho teve rinite alérgica?

1 – () sim 2 – () não 9 – () não informado **56-[]**

57- Com que frequência seu filho teve espirros/coriza/coceira no nariz/obstrução nasal nos últimos 3 meses?

1 – () não teve 2 – () < 1 vez/mês **57-[]**

3 – () mensalmente, mas não semanalmente 4 – () semanalmente mas não diariamente

5 – () diariamente 9 – () não informado

58- Seu filho usa/usou medicação de controle para rinite, nos últimos 3 meses? **58-[]**

1 – () não usa 2 – () cromoglicato de sódio

3 – () corticóide nasal 4 – () outros _____

9 – () não informado

59- Alguma vez na vida seu filho teve manchas com coceira na pele que apareciam e desapareciam por pelo menos 6 meses? 2 – () sim 0 – () não 9 – () não informado

59-[]

*Se a resposta foi não passe para questão 67

60- Nos últimos 12 meses seu filho teve manchas com coceira na pele?

2 – () sim 0 – () não 9 – () não informado **60-[]**

61- Alguma vez estas manchas com coceira afetaram alguns dos seguintes locais: dobras do cotovelo, atrás dos joelhos, frente dos tornozelos, abaixo das nádegas ou em volta do pescoço, orelha ou olhos?

2 – () sim 0 – () não 9 – () não informado **61-[]**

62- Com que idade estas manchas com coceira apareceram pela primeira vez?

Abaixo dos 2 anos 1 – () entre 2 e 4 anos 0 – () 5 anos ou mais 9 – () não informado **62-[]**

* Questão até 10 anos

63- Alguma vez estas manchas com coceira desapareceram completamente nos últimos 12 meses?

0 – () sim 2 – () não 9 – () não informado **63-[]**

64- Nos últimos 12 meses, quantas vezes aproximadamente, seu filho ficou acordado à noite por causa desta coceira na pele?

0 – () nunca 1 – () menos de 1 noite por semana 2 – () 1 ou mais noite por semana **64-[]**

65- Alguma vez na vida seu filho teve eczema?

1 – () sim 0 – () não 9 – () não informado **65-[]**

IV – DADOS ANTROPOMÉTRICOS

66- Peso (em gramas): _____ 99999 – () não informado **66-[]**

67-Altura (em centímetros):_____999 – () não informado

67-[]

V – RESULTADOS DOS TESTES CUTÂNEOS DE PUNCTURA

68-*Dermatophagoides pteronissinus* 1 - () positivo 2 - () negativo 9 - () não informado ____cm 68-[]

69-*Blomia tropicalis* 1 - () positivo 2 - () negativo 9 - () não informado ____cm 69-[]

70-*Dermatophagoides farinae* 1 - () positivo 2 - () negativo 9 - () não informado ____cm 70-[]

VI – RESULTADOS DA MEDIDA DA CICATRIZ BCG

71- _____ (mm) longitudinal

_____ (mm) transverso

_____ (mm) média

71-[]

VII – RESULTADO DO TESTE DE MANTOUX

72- _____ (mm)

72-[]