



ARTIGO DE REVISÃO

O impacto do meio ambiente no trato respiratório*The impact of the environment upon the respiratory tract*Maria Cândida Rizzo¹**Resumo**

Objetivos: A poluição do ar tem sido um problema de significância mundial, com repercussões crescentes no trato respiratório, ao longo dos anos. Os objetivos desta revisão são apresentar resultados de estudos sobre os potenciais efeitos deletérios de alérgenos e poluentes sobre o trato respiratório.

Método: Foram analisadas publicações a respeito de cada agente envolvido, sejam poluentes ambientais ou alérgenos domiciliares.

Resultados: Observa-se um aumento na prevalência de asma e alergias em crianças de países ocidentais, nas últimas décadas, envolvendo a participação de vários fatores ambientais. Os alérgenos de ácaros domésticos, seguidos por alérgenos de animais domésticos, têm sido apontados como as mais importantes causas de sensibilização precoce, em indivíduos geneticamente susceptíveis. Os efeitos dos poluentes na função pulmonar são mais observados em indivíduos asmáticos. Torna-se especialmente importante determinar o modo de ação dos poluentes nas vias aéreas dos asmáticos, uma vez que a asma é uma doença inflamatória, com grande afluxo de células às mucosas das vias aéreas. Entre os poluentes ambientais, os elementos liberados pela fumaça do tabaco, o NO₂, o O₃ e o CO são associados a um aumento de morbidade, com ações deletérias específicas.

Conclusão: Há evidências de que a maior exposição a alérgenos ambientais e a poluentes e irritantes, associados a mudanças na dieta, alterações no padrão de exposição a agentes infecciosos e o uso de antibióticos, tenham favorecido uma maior ocorrência de doenças respiratórias, nos últimos 30 anos.

J. pediatr. (Rio J.). 1998; 74 (Supl.1): S12-S20: doenças respiratórias, poluição do ar, poluição por fumaça de tabaco, ozônio, partículas no ar.

A atuação do meio ambiente sobre o trato respiratório, como um potencial fator de risco para o desenvolvimento de doenças respiratórias, tem sido objeto de estudo nos últimos anos.

A asma brônquica é a doença crônica de maior prevalência na faixa etária pediátrica. À luz dos conhecimentos atuais, a asma é uma condição respiratória crônica caracterizada por uma inflamação das vias aéreas, com exteriorização clínica caracterizada por episódios intermitentes

Abstract

Objectives: Air pollution has been a significant worldwide problem with repercussions in the respiratory tract, along the years. The main objectives of this review are to present results from studies on the harmful effects of allergens as well as of pollutants over the respiratory tract.

Method: Published studies were analyzed in respect to each agent involved, either environmental pollutants or allergens.

Results: There has been a remarkable increase in the prevalence of asthma and allergies in Western countries children, during the last decades, which involves participation of many environmental factors. The house dust mites allergens followed by pet allergens have been classified as one of the most important causes of early sensitization, in genetically susceptible individuals. It became of utmost importance to determine the action of pollutants in the airways of asthmatic patients, once asthma is an inflammatory disease with an outstanding surge of inflammatory cells, affecting airway mucosal. Among the environmental agents, tobacco smoke, NO₂, O₃ and the CO are associated to the increase in morbidity, with specific harmfulness.

Conclusion: There are evidences that the higher exposure to indoor allergens, to pollutants and irritants, associated to changes in diets, changes in the exposure pattern to infectious agents and the use of antibiotics are leading to an increase in respiratory diseases over the last 30 years.

J. pediatr. (Rio J.). 1998; 74 (Supl.1): S12-S20: respiratory tract diseases, air pollution, tobacco smoke pollution, ozone, airborne particles.

de broncoespasmo, que podem ser provocados por uma variedade de estímulos, alérgenos ou não.

Existem evidências consideráveis a respeito do papel da hereditariedade no desenvolvimento da asma. Estudos realizados em gêmeos demonstraram maiores taxas de concordância da doença entre monozigóticos do que entre dizigóticos^{1,2}. Sarafino et al., em 1995³, estudando gêmeos mono e dizigóticos, mostraram que a hereditariedade afeta não apenas a ocorrência da asma, mas também sua gravidade e o impacto das infecções respiratórias e atividade física como precipitantes das crises de asma.

1. Doutora em medicina pela Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Por outro lado, a concordância na manifestação da doença entre os gêmeos dizigóticos mostrou-se relativamente baixa, quando comparada com outras doenças determinadas geneticamente⁴. Esses achados sugerem que fatores ambientais têm grande influência na determinação de quais indivíduos geneticamente predispostos desenvolverão asma ou outros sintomas alérgicos.

A alergia desenvolve-se, portanto, como resultado de múltiplas interações entre o sistema imune e agentes ambientais. Alguns trabalhos apontam como os riscos mais importantes para atopia a presença de atopia nos pais e a exposição precoce a alérgenos ambientais⁵⁻⁷. Silvestri et al., em 1997⁸, estudaram a frequência de *prick test* positivos em 85 crianças asmáticas e ou com rinite, e seus pais. Avaliaram ainda o tipo de sensibilização específica a alérgenos em suspensão e a prevalência de mono ou polissensibilização. Observaram uma prevalência de polissensibilização em 68% das crianças estudadas, com 32% de monossensibilização. Esses dados foram significativamente maiores que os observados em seus pais. É possível que as modificações progressivas no ambiente de países evoluídos possam ter sido responsáveis pela maior incidência de atopia nas crianças⁹. Observou-se que nos pais a prevalência de sensibilização a animais domésticos foi significativamente menor que a obtida nas crianças. Essa observação pode ser parcialmente explicada, levando-se em conta que antes dos anos 50, os animais viviam fora dos ambientes domésticos. A sensibilização em crianças foi significativamente mais frequente em famílias polissensibilizadas do que monossensibilizadas, possivelmente relacionada a fatores genéticos ou à exposição a múltiplos alérgenos presentes no ambiente, onde vivem todos os moradores da família.

O aumento na prevalência de asma e alergias em crianças de países ocidentais, nas últimas décadas, reforça o conceito de que fatores ambientais determinam parcialmente a ocorrência dessas condições. Muitos fatores podem explicar o aumento da prevalência neste período: o melhor reconhecimento da doença, o aumento no número de indivíduos geneticamente predispostos e a ocorrência de modificações nos fatores ambientais, como poluição, dieta ou exposição alérgica.

Tenta-se compreender quais as principais modificações nos aspectos da sociedade ocidental, no decorrer dos anos, responsáveis por mudanças nas respostas imunológicas aos alérgenos.

1. Mudanças que poderiam aumentar a exposição a alérgenos

As mudanças que ocorreram nas casas do Reino Unido, Austrália e Nova Zelândia foram grandes e podem ter contribuído para aumentar as condições de proliferação acarina. Em outras áreas, as mudanças maiores foram na taxa de ventilação, com efeitos secundários em temperatura. Por exemplo, na Suécia, muitas casas mudaram seu

sistema de aquecimento com lareiras, para aquecimento central. Em outras áreas geográficas, as mudanças nas casas não foram radicais no decorrer dos anos. Em Hong Kong, onde a prevalência de asma é alta, as janelas são geralmente mantidas abertas, havendo boas condições de proliferação acarina¹⁰. É difícil a identificação de uma mudança semelhante em residências, que seja comum a todas as áreas onde a asma vem aumentando em prevalência. O aumento da permanência dentro dos domicílios e, talvez, um maior sedentarismo podem ter aumentado a exposição à poeira e a alérgenos a ela relacionados. Entretanto, esta modificação é somente da ordem de 3 h/dia, isto é, de 20 h/dia a 23 h/dia (aumento de aproximadamente 15%).

2. Mudanças que poderiam ter contribuído para um aumento na reatividade imunológica

Dieta: há muitos anos discute-se o possível papel das mudanças alimentares no aumento da prevalência da asma. Nos anos 70, o aumento no consumo de alimentos coloridos e preservativos alimentares foi proposto como uma causa de asma. Em algumas comunidades, o decréscimo no consumo de peixes poderia ter aumentado a reatividade brônquica¹¹. Uma alta concentração de sal na dieta também tem sido associada a um aumento na prevalência e gravidade da asma¹². Em muitos países ocidentais, tem-se evidenciado um declínio progressivo no consumo de frutas e vegetais frescos¹³. Entretanto, é difícil catalogar um padrão consistente de alteração alimentar que pudesse ter influenciado, de modo semelhante, diferentes partes do mundo onde houve um aumento da prevalência de asma.

Infecções: são propostos dois modelos diferentes para o papel das infecções virais precoces, influenciando o padrão das respostas imunes.

A infecção pelo vírus sincicial respiratório nos dois primeiros anos de vida é a causa mais importante de bronquiolite e pode induzir a uma resposta tipo TH2, à ativação de eosinófilos e, talvez, a produção de anticorpos IgE específicos^{14,15}.

A exposição precoce a vírus respiratórios comuns pode também apresentar um efeito protetor. Este mecanismo tem sido proposto como uma explicação para a menor prevalência de asma entre o segundo ou mais filhos, quando comparados ao filho mais velho ou ao filho único^{16,17}. A possível explicação é que o mais velho traga para casa vírus provenientes do ambiente escolar, possibilitando o contato dos mais novos com esses agentes.

Um estudo histórico realizado na Guiné-Bissau, oeste da África, examinou a relação entre a ocorrência de sarampo na infância e os resultados de *prick test* para aeroalérgenos, incluindo os *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae* e uma mistura de pólenes, em adultos jovens¹⁸. A história de infecção pelo vírus do sarampo associou-se a uma menor ocorrência de atopia e a uma menor frequência de *prick test* positivo, especificamente para *D pteronyssi-*

nus, Outro estudo mostrou, em crianças escolares japonesas¹⁹, uma associação entre a hipersensibilidade tardia a *Mycobacterium tuberculosis*, medida pelos testes cutâneos com tuberculina, e a presença de manifestações clínicas de atopia, níveis séricos total e específicos de IgE e níveis séricos de citocinas do tipo TH1 ou TH2. Os indivíduos que apresentaram os maiores índices de reatividade aos testes cutâneos foram associados à menor ocorrência de crises de asma, aos menores níveis de IgE sérica total, aos menores níveis séricos de citocinas do tipo TH2 e aos maiores níveis de citocinas do tipo TH1.

Em cada um desses estudos^{18,19}, a infecção por um agente intracelular precocemente na vida levou a um menor desenvolvimento de atopia subsequente. Entretanto, é provável que o assunto seja mais complexo. A infecção por vírus do sarampo leva a uma profunda supressão da imunidade mediada por células, provavelmente através de uma supressão na produção de IL-12 (interleucina-12) via ligação cruzada com o receptor celular, CD46, pelo vírus²⁰. Ocorre, então, um predomínio de citocinas do tipo TH2 durante e após a infecção pelo vírus do sarampo. Também certas viroses respiratórias, como o rinovírus e o vírus sincicial respiratório, podem atuar como promotores efetivos de sintomas ou, mesmo, como indutores de citocinas do tipo TH2, em asma^{21,22}.

Em tuberculose, é clara a predominância de resposta imunológica tipo TH1, assim como a possibilidade da supressão de mecanismos tipo TH2, para atopia. Isso nos leva a crer que a exposição a *Mycobacterium tuberculosis* na primeira infância, ao mesmo tempo em que esteja ocorrendo a primeira exposição a alérgenos, poderia, através de mecanismos de equilíbrio de citocinas, levar à formação de clones alérgeno-específicos, incluindo células de memória, de um tipo TH1 predominante²³. Realmente, em jovens com reações fortes à tuberculina, há uma maior secreção de INF γ (interferon gama) por suas células mononucleares após estímulo alérgico, comparativamente a células de indivíduos não reatores. Podemos, então, prever que a exposição a outros agentes infecciosos com grandes potenciais de resposta TH1, nos primeiros anos de vida, poderia ter um efeito semelhante na característica dos clones específicos aos alérgenos²⁴. Estes agentes infecciosos não precisam ser necessariamente patógenos, desde que os agentes que colonizam também são de grande importância para a programação do desenvolvimento do sistema imune, particularmente os que constituem a microflora do intestino e que impactam no sistema imune através do tecido linfóide associado ao intestino²⁵. A densidade e característica desta microflora pode ser significativamente afetada pelo estilo de vida ou antibióticos orais, com uma potencial "desprogramação" imunológica²⁶.

Antibióticos: outra modificação que poderia ter alterado a reatividade imunológica no decorrer dos anos foi a introdução de antibióticos de amplo espectro. A hipótese é de que infecções bacterianas estimulam macrófagos a

produzir IL-12, que é o estímulo mais importante para a diferenciação de resposta tipo TH1²⁷. Se as infecções forem limitadas, acredita-se que ocorre um menor estímulo para TH1, com conseqüente aumento de respostas TH2.

Antes de 1960, era normal que crianças brincassem fora de casa de 3 a mais horas por dia. Além disso, andar a pé ou de bicicleta vários quilômetros por dia (ex. para a escola) fazia parte da vida normal. Nos últimos 30 anos, a atividade física entre as crianças diminuiu dramaticamente. Paralelamente, houve um aumento substancial da obesidade infantil nos últimos anos. É possível que a vida sedentária prolongada possa contribuir para um aumento na reatividade brônquica.

Observa-se, realmente, que houve muitas mudanças na sociedade ocidental, podendo ter acarretado modificações na reatividade imunológica. É altamente provável que alterações nos padrões das infecções virais, a dieta e o uso de antibióticos tenham tido um importante efeito nas respostas imunológicas e inflamatórias do trato respiratório.

Poluentes intra e extradomiciliares

A exposição a poluentes aéreos intra e extradomiciliares têm sido incriminada como um risco em potencial para o desenvolvimento e a exacerbação de asma e outras doenças respiratórias²⁸⁻³⁰.

A concentração dos poluentes intradomiciliares depende basicamente de 2 determinantes básicos: 1) da taxa de liberação de poluentes a partir de uma fonte e 2) da taxa de depuração desses elementos do ambiente³¹.

O conteúdo de partículas respiráveis dentro das residências está primariamente associado à fumaça de cigarro, embora outras fontes incluam aquecedores de querosene e gás para cozimento, queima de lenha em lareiras e a infiltração de materiais particulados do meio externo.

Os contaminantes da queima do tabaco incluem mais de 3800 componentes que atuam como irritantes, agentes imunossupressivos e carcinogênicos (ex. substâncias particuladas, compostos orgânicos voláteis, cetonas, gases inorgânicos e compostos nitrogenados orgânicos).

Contaminantes externos ao ambiente intradomiciliar podem ser importantes causas de contaminação dos ambientes. O ar extradomiciliar pode ser, portanto, uma fonte de contaminação do ar intradomiciliar, tanto por infiltração, como, por exemplo, através de janelas abertas. O grau de contribuição dos contaminantes extradomiciliares na qualidade do ar dos domicílios depende do processo de filtros ou de exaustão existente nas construções. Atividades realizadas fora das residências podem contribuir para a poluição intradomiciliar. O uso de máquinas a diesel ou gasolina, como as cortadoras de grama ou árvores, podem eliminar odores a partir da combustão, atingindo os ambientes intradomiciliares. Pesticidas (herbicidas e inseticidas) não são usados apenas dentro dos domicílios, particu-

larmente em áreas agrícolas. Estes aerossóis e contaminantes particulados podem penetrar nos domicílios e produzir efeitos adversos à saúde humana.

As características do ar extradomiciliar dependem de numerosos fatores: temperatura, umidade, insolação, velocidade e direção dos ventos, pressão barométrica e da existência de fontes de poluição próximas. A poluição do ar ambiente a partir da combustão de combustíveis proveniente principalmente de motores de veículos, lareiras e churrasqueiras. As emissões dos veículos representam a fonte mais importante de monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrogênio (NOx), hidrocarbonos, partículas de diesel e chumbo. O CO é um produto da combustão que se eleva em áreas urbanas super povoadas e durante o inverno, quando a dispersão dos poluentes é diminuída³².

O ozônio (O₃) é um poluente secundário produzido na atmosfera por reações fotoquímicas, envolvendo NOx e hidrocarbonos. Os níveis de O₃ são tipicamente mais elevados fora dos domicílios do que nos ambientes domiciliares. As fontes precursoras de O₃ incluem principalmente os automóveis e incineradores de produtos vegetais, produtos como tintas e fluidos para queima de carvão. Fontes naturais como as árvores, podem contribuir para a liberação de alguns precursores.

A citotoxicidade de O₃ pode ser devida a sua interação com lípides insaturados, que geram radicais livres, ou produtos tóxicos intermediários, como o peróxido de hidrogênio e aldeídos³³. A lesão de células pulmonares, como macrófagos, células epiteliais e mastócitos, resulta em um aumento de permeabilidade ou acúmulo de proteínas plasmáticas no interstício ou espaço aéreo³⁴. Há um aumento na inflamação³⁵ e um estímulo das vias neurais aferentes das vias aéreas.

Em indivíduos normais, a exposição ao ozônio causa um defeito restritivo funcional na função pulmonar, que é associado a um desconforto respiratório e caracterizado por uma menor capacidade vital forçada (CVF), com pequena alteração na razão VEF1/CVF³⁶. Esse poluente provoca também uma reação inflamatória no trato respiratório, com aumento no número de neutrófilos e de mediadores, como a IL-6, IL-8 e fibronectina no fluido broncoalveolar, mesmo com baixos mas prolongados níveis de exposição a O₃ (~0,08 ppm)³⁷.

Estudos epidemiológicos evidenciam que o aumento nos níveis de O₃ nos ambientes tem sido relacionado a um aumento na morbidade da asma³⁸. Como a asma é caracterizada por um processo inflamatório de vias aéreas com aumento de sensibilidade a irritantes aéreos, sugere-se que os indivíduos asmáticos possam ser particularmente sensíveis aos efeitos do O₃.

Os NOx também participam na geração de ácido nítrico atmosférico, sais de nitrato e nitratos orgânicos. O dióxido de nitrogênio (NO₂) pode alcançar concentrações mais elevadas nos domicílios, em associação com o uso de fogões a gás e aquecedores a querosene. Entretanto, o NO₂ encontrado fora dos domicílios contribui para um

aumento nos níveis dentro das residências, com importância na geração do O₃ troposférico. O NO₂ é menos reativo que o O₃ e devido a sua baixa solubilidade, pode penetrar na periferia dos pulmões, onde mais de 60% é depositado.

As emissões de plantas são responsáveis pelos níveis de dióxido de enxofre (SO₂) atmosférico e por outras partículas como nitratos, sulfatos ácidos e outros sais de sulfatos, gerados secundariamente na atmosfera.

Incineradores de lixo, fundições e outras atividades industriais podem ser responsáveis por emissões de uma variedade de compostos ácidos, orgânicos e metálicos.

Alérgenos domiciliares, sensibilização e doença

Sensibilizantes ou alérgenos são proteínas estranhas, ou substâncias químicas de pequenos pesos moleculares, conhecidas por induzir a uma resposta imunológica, incluindo respostas do tipo TH2 e anticorpos da classe IgE. Todos os alérgenos inalantes e alguns não inalantes (alimentos, fungos) entram nessa categoria. Exposições repetidas a um alérgeno podem levar a respostas eosinofílicas na pele ou nos pulmões. Existem agentes potencializadores que, quando presentes no ambiente, podem aumentar ou mesmo causar inflamação nos pulmões, mas não induzem respostas do tipo TH2 ou mesmo anticorpos IgE. Os melhores exemplos destes são os rinovírus, as endotoxinas, o ozônio e as partículas de diesel³⁹. Portanto, uma infecção por rinovírus pode aumentar a resposta inflamatória brônquica a um estímulo alérgico⁴⁰. A exposição a endotoxinas é um importante fator determinante de sintomas entre pacientes asmáticos e alérgicos⁴¹. A resposta inflamatória a alérgenos no nariz e pulmões pode ser amplificada por uma precedente exposição a ozônio⁴².

Desencadeantes são agentes que podem induzir a um aumento da resistência das vias aéreas, dentro de 20 minutos após a exposição, sem uma subsequente resposta inflamatória. Exemplos comuns são a histamina, a metacolina, a água destilada e soluções salinas hipertônicas. Além disso, são desencadeantes os estímulos criados por exercícios aeróbicos em ar seco, ou a exposição ao ar frio. A exposição passiva ao tabaco é freqüentemente incluída como um desencadeante. Entretanto, evidências recentes de que a resposta pulmonar ao fumo pode levar 40 minutos, sugerem que deve haver também um componente inflamatório decorrente desta exposição⁴³. O importante na resposta a agentes desencadeantes como a histamina, a metacolina e o exercício é que não há uma resposta eosinofílica. É consenso de que nem agentes potencializadores nem desencadeantes podem originar asma por si, atuando somente em populações predispostas.

Se o aumento verificado na prevalência de asma mundial, no período de 1960 a 1995, além de outros fatores, é devido a um aumento na exposição a alérgenos, temos que levar em conta vários alérgenos intradomiciliares, principalmente os provenientes de ácaros, de cão, de gato e de barata.

As espécies de ácaros domésticos mais frequentemente estudadas são o *D pteronyssinus* e o *D farinae*. O DNA complementar de alguns alérgenos desses ácaros já foram clonados^{44,45}. Foram identificados os dois grupos principais de alérgenos de *Dermatophagoides* (Grupos I e II). Eles ocupam um importante papel nas doenças humanas, porque a maioria dos pacientes alérgicos a ácaros (70-100%) demonstram sensibilidade imediata a eles. Seus pesos moleculares são de 25 e 14 Kda, respectivamente. Sete outros grupos (III-IX) foram identificados, sendo menos frequentemente envolvidos na sensibilização humana. Dentro de cada grupo, os alérgenos apresentam características físico-químicas comuns (ex. peso molecular e seqüência de aminoácidos). A maioria deles são enzimas digestivas dos ácaros, sendo secretados em suas fezes^{46,47}.

O *Der p I* é um exemplo de alérgeno da poeira doméstica, excretado na forma de partículas fecais, que se acumulam em culturas de ácaros e na poeira doméstica⁴⁸. O número estimado dessas partículas na poeira é acima de 100 000/g. O diâmetro das partículas fecais vai de 10 a 40µ e elas são envolvidas por uma membrana peritrófica que as mantém esféricas. As partículas de 20µ depositam-se rapidamente nas superfícies, sendo que os alérgenos de ácaros são geralmente difíceis de se coletar em suspensão de ambientes sem "distúrbio"⁴⁹. A quantidade de alérgenos em cada partícula é grande (aproximadamente 0,2 ng) e relativamente poucas partículas conseguirão ser inaladas, ou seja, 100 a 200/dia. Essa situação de exposição natural é dramaticamente diversa da observada na provocação brônquica. A conseqüência importante é que a exposição natural a alérgenos de ácaros quase nunca alcança níveis suficientes para uma resposta broncoespástica aguda. Entretanto, sugere-se que a exposição diária a poucas partículas fecais seja a forma ideal de exposição para o desenvolvimento de hiperreatividade brônquica, sem que o paciente se dê conta das reações pulmonares no exato momento da exposição⁵⁰.

Existem evidências a respeito de uma correlação entre exposição e sensibilização, tanto para ácaros como para outros alérgenos. A maioria dos asmáticos apresenta reatividade cutânea imediata a ácaros domésticos. São observados altos títulos de IgE, IgA e IgG anti *Der p* em aproximadamente 90% dos pacientes com testes cutâneos positivos para *Der p*³⁹.

Além dos mecanismos imunológicos, os alérgenos de ácaros podem participar na fisiopatologia da asma e hiperreatividade brônquica através de outras ações:

- as enzimas de *Der p* podem participar no aumento da permeabilidade brônquica⁵¹;
- a descamação epitelial induzida por *Der p* pode induzir um fenômeno inflamatório por si só⁵²;
- como os alérgenos de *Dermatophagoides spp* são enzimas digestivas do ácaro (cisteína e proteases séricas)^{46,47}, podem induzir danos diretos à mucosa. Essa atividade enzimática mista pode ser responsável pela

quebra de CD23 (receptor de baixa afinidade para IgE). Conseqüentemente, pode haver um estímulo à síntese de IgE devido à supressão de um mecanismo de *feedback* inibitório normal e por um aumento de CD23 solúvel (que induz a produção de IgE). Este efeito é prevenido pela alfa1-antitripsina, o qual é diminuído em fumantes, favorecendo a asma alérgica nestes indivíduos⁵³;

- além de seus efeitos na permeabilidade epitelial de vias aéreas e IgE, as propriedades enzimáticas dos alérgenos de *Der p* poderiam participar na patogênese da asma ativando diretamente as células inflamatórias⁵⁴. As proteases de HDM poderiam também alterar diretamente as funções epiteliais, com conseqüente secreção de mediadores lipídicos inflamatórios, radicais livres de oxigênio e citocinas, ou com a expressão de enzimas que inativam neuropeptídeos proinflamatórios e moléculas de adesão⁵⁵;

- finalmente, as atividades proteolíticas dos alérgenos de *Der p* poderiam alterar as secreções brônquicas atuando (diretamente ou via resposta inflamatória) nos proteoglicanos do muco ou no transporte de íons das vias aéreas⁵⁶.

Todas as propriedades enzimáticas dos alérgenos de ácaros não são suficientes para induzir a uma sensibilização de vias aéreas e sintomas de asma, já que muitos indivíduos não asmáticos são expostos a altos níveis de alérgenos. Todos os efeitos enzimáticos dos alérgenos de ácaros na mucosa das vias aéreas necessitam de melhor comprovação, já que a maioria dos estudos utilizam altas doses de alérgenos em fragmentos epiteliais, que podem ser diferenciados dos encontrados normalmente nos ambientes.

Há estudos sugerindo que anticorpos para alérgenos de ácaros possam ser detectados no primeiro ano de vida. Estudos recentes mostraram que células T do sangue de cordão proliferam-se quando colocadas em meio de cultura com extratos de ácaros ou com *Der p I* ou *Der p II*⁵⁷. A significância dos resultados obtidos com extratos de ácaros é de difícil interpretação devido aos potenciais efeitos inespecíficos. Entretanto, a observação de que essas respostas podem ser obtidas com extratos purificados levantou interesse sobre a possibilidade da sensibilização a alérgenos inalantes (ou alimentares) estar ocorrendo intraútero. Estudos sobre respostas de células T, realizados na primeira fase da vida, são de grande importância para o estabelecimento da época ideal para se intervir no processo de sensibilização (por controle do contato com o alérgeno ou por imunização ativa). Há estudos de vários países mostrando que a sensibilização é diretamente relacionada à concentração de alérgenos na residência do paciente⁵⁸. A sensibilização a inalantes é fortemente influenciada pela genética. O nível de risco proposto para exposição a alérgenos de ácaros (>2µg/g Grupo I) é válido para indivíduos predispostos geneticamente³⁹. Os resultados de Kuehr et al. sugerem que a sensibilização de indivíduos geneticamente não alérgicos requer concentrações maiores que 60µg Grupo I/g de poeira⁵⁸. Na Suécia,

onde a infestação por ácaros domésticos é rara, a sensibilização parece aumentar em paralelo com a exposição. O conteúdo de ácaros domésticos nos colchões é mais alto em crianças sensibilizadas a eles, nas quais o encontro de asma é mais freqüente⁵⁹. A sensibilização a ácaros tem sido observada em crianças que foram expostas a níveis de alérgenos menores que 2µg/g, indicando que esse valor deveria ser considerado como um nível estatístico, não podendo ser aplicado a casos individuais, onde existem outros fatores de risco a serem considerados. Em muitos países, a sensibilização a ácaros domésticos está presente na maioria dos asmáticos (94%), comparativamente à população em geral (32%)⁶⁰.

A demonstração de uma relação dose-resposta entre exposição a alérgenos de ácaros da poeira e sensibilização está bem documentada⁶¹, mas isso não se mostra tão simples quando se consideram os sintomas de asma⁶². Bradford-Hill⁶³, em 1965, foi o primeiro a propor a existência de uma causalidade entre a exposição ambiental e a ocorrência de doença não-infecciosa. A consistência da associação entre sensibilização a alérgenos intradomiciliares e asma advém de evidências experimentais a partir de provocação brônquica, e de estudos de controle ambiental. Por outro lado, muitos estudos não conseguiram estabelecer uma relação entre níveis de exposição e gravidade dos sintomas de asma.

Sabe-se que aproximadamente 50% das crianças alérgicas e adultos jovens que são expostos a alérgenos em suas residências, não sibilam⁶⁴. Os fatores que influenciam a relação entre exposição e sintomas incluem 1) a interação entre os efeitos da exposição a vários alérgenos diferentes; 2) a influência de múltiplos fatores que podem intensificar a resposta inflamatória a alérgenos; 3) a ausência de um teste simples e objetivo que caracterize a asma ou inflamação pulmonar; 4) muitos desencadeantes e fatores irritantes inespecíficos que podem facilitar o estreitamento das vias aéreas ou a gravidade dos sintomas.

A sensibilização a outros alérgenos intradomiciliares é também dependente da exposição, mas a evidência de uma relação dose-resposta é menos clara. Em uma comunidade onde mais de 50% das casas têm animais, com todas as crianças sendo expostas a significativa carga de alérgenos de cães ou gatos, a presença do animal na casa não prediz a ocorrência de sensibilização. A razão para isso parece ser que o alérgeno de gato, *Fel d I*, é carregado por partículas com dimensões abaixo de 2µ de diâmetro. O alérgeno de gato é proveniente tanto do animal quanto da mobília e vestes, que atuam como importantes reservatórios. De fato, em uma casa com muitas mobílias (estofados) e baixa ventilação, mais de 65% das partículas ficam em suspensão no ar, podendo ser facilmente inaladas⁶⁵. Isso permite uma comparação direta com resultados de provocação brônquica e sugere que um paciente altamente sensível poderia inalar uma concentração de alérgenos semelhante à utilizada para broncoprovocação, nos primeiros 20 minutos de permanência dentro dos domicílios com gato,

mesmo com o animal ausente no momento⁶⁶. Esses resultados explicam por que pacientes freqüentemente desenvolvem sintomas agudos após alguns minutos em ambientes onde vive um gato (não necessariamente presente no local). Níveis significantes de alérgenos de cães e gatos são encontrados em escolas e casas onde não há animais³⁹. Em contraste, onde menos de 10% das famílias têm animais dentro das casas, a concentração de alérgenos de gatos na poeira doméstica é geralmente < 1µg *Fel d I*/g poeira e a ocorrência de sensibilização não é comum⁶⁷.

A sensibilização a alérgenos de barata é também restrita às comunidades onde a maioria das casas é infestada por esses insetos. A sensibilidade imediata a proteínas derivadas da *Blattella germanica* é comum entre asmáticos na maioria das cidades americanas⁶⁸. A conclusão é que o padrão de sensibilização entre asmáticos pode ser predito pela concentração média de alérgenos nas suas residências⁶⁹. Somente para alérgenos de ácaros da poeira há uma relação direta entre sensibilização e concentração de alérgenos nas residências dos pacientes.

São consistentes os benefícios que ocorrem com a redução de exposição à carga alérgica intradomiciliar, a longo prazo⁷⁰. Esses benefícios incluem reduções nos níveis de IgE total e específicas⁷¹, uma diminuição na hiperreatividade brônquica, uma melhora nos valores de função pulmonar (*peak flow* e VEF1)⁷² e uma redução na fase eosinofílica da inflamação, nas vias aéreas⁷³. Estudos recentes têm demonstrado benefícios clínicos na asma⁷⁴. Estes estudos utilizaram uma combinação de métodos, como o encapamento de colchões, o uso de acaricidas e vários métodos de higienização do ambiente.

Como alternativa ou complementação a medidas de higiene para minimizar a exposição, lembramos a criação de condições ecológicas locais que dificultem a proliferação acarina. Numerosos estudos confirmam a associação existente entre umidade intradomiciliar e níveis de alérgenos de ácaros^{75,76}. Outras associações indiretas com umidade incluem a altitude dos prédios^{75,76}, a taxa de ventilação^{76,77}, os pisos de concreto⁷⁸ e a elevada densidade ocupacional⁷⁷.

A associação entre sensibilização a alérgenos intradomiciliares e sintomas de asma tem sido observada com ácaros da poeira, animais domésticos e alérgenos de barata. Em estudos populacionais observa-se que há muitos indivíduos alérgicos que não manifestam sintomas de asma e não apresentam hiperreatividade brônquica⁶⁹. Portanto, a sensibilização a alérgenos intradomiciliares é um fator de risco para asma em um senso epidemiológico. Permanece a questão de por que alguns indivíduos alérgicos apresentam sintomas de asma enquanto outros têm rinite e outros ainda são assintomáticos. Inicialmente, se imaginava que a concentração dos alérgenos na casa dos pacientes alérgicos poderia ser o determinante primário dos sintomas³⁹. Em alguns estudos houve uma significante correlação entre a exposição e sintomas. Entretanto, em muitos outros, isso não parece ser demonstrado. A impli-

cação é que uma vez que um indivíduo tenha desenvolvido hipersensibilidade imediata, a quantidade do alérgeno necessária para induzir sintomas é muito variável⁶².

Na tentativa de se compreender por que as doenças alérgicas / inflamatórias com manifestações pulmonares aumentaram dez vezes em prevalência nos últimos 30 anos é importante que se leve em consideração todas as modificações que ocorreram na sociedade ocidental nesse período. Até o momento, nem o aumento da exposição a alérgenos, a poluentes, a queda na atividade física, as modificações dietéticas, ou as alterações nas infecções virais e bacterianas conseguem explicar completamente a "epidemia". É muito mais provável que tenha ocorrido uma combinação dos fatores.

Referências bibliográficas

- Duffy DL, Martin NG, Battistutta D, Hopper JL, Mathews JD. Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:1351-8.
- Nieminen MM, Kaprio J, Koskenvuo M. A population-based study of bronchial asthma in adult twin pairs. *Chest* 1991; 100:70-5.
- Sarafino PS, Jarret G. Genetic factors in the presence, severity, and triggers of asthma. *Arch Dis Childhood* 1995; 73:112-6.
- Edfors-Lubs ML. Allergy in 7000 twin pairs. *Acta Allergol* 1971; 26:249-85.
- Croner S, Kjellman N-IM. Development of atopic disease in relation to family history and cord blood IgE levels. Eleven-year follow-up in 1654 children. *Pediatr Allergy Immunol* 1990; 2:14-20.
- Hanson B, McGue M, Roitman-Johnson B, Segal NL, Bouchard TJJ Jr, Blumenthal MN. Atopic disease and Immunoglobulin E in twins reared apart and together. *Am J Hum Genet* 1991; 48:873-9.
- Young RP, Hart BJ, Merret TG, Read AF, Hopkin JM. House dust mite sensitivity: interaction of genetics and allergen dosage. *Clin Exp Allergy* 1992; 22:205-11.
- Silvestri M, Oddera S, Crimi P, Rossi GA. Frequency and specific sensitization to inhalant allergens within nuclear families of children with asthma and or rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 79:512-6.
- Zetterstrom O. The increased prevalence of allergic airway disease. *Allergy* 1988; 43:10-1.
- Leung R, Ho P. Asthma, allergy and atopy in three southeast Asian populations. *Thorax* 1997; 49:1205-10.
- Peat Jk, van den Berg RH, Green WF, et al. Changing prevalence of asthma in Australian children. *Brit Med J* 1994; 308:1591-6.
- Burney P. The origins of obstructive airways disease. A role for diet? *Am J Resp Crit Care Med* 1995; 153:1292-3.
- Pistelli R, Forastiere F, Corbo GM, Dell'Orco V, Brancato G, Agabiti N, et al. Respiratory symptoms and bronchial responsiveness are related to dietary salt intake and urinary potassium excretion in male children. *Eur Respir J* 1993; 6:517-22.
- Duff AL, Pomeranz ES, Gelber LE, Price GW, Farris H, Hayden FG, et al. Risk factors for acute wheezing in infants and children: viruses, passive smoke, and IgE antibodies to inhalant allergens. *Pediatrics* 1993; 92:535-40.
- Srikiatkachorn A, Braciale TJ. Virus-specific CD8+ T lymphocytes downregulate T helper cell type 2 cytokine secretion and pulmonary eosinophilia during experimental murine respiratory syncytial virus infection. *J Exp Med* 1997; 186:421-32.
- Lewis S, Butland B, Strachan D, Bynner J, Richard D, Butler N, et al. Study of the aetiology of wheezing illness at age 16 in two national British cohorts. *Thorax* 1996; 51:670-6.
- Martinez FD. Role of viral infections in the inception of asthma and allergies during childhood: could they be protective? *Thorax* 1994; 49:1189-91.
- Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ, Barker DJP, Heyes CB, Shiell AW, et al. Measles and atopy in Guinea-Bissau. *Lancet* 1996; 347:1792-6.
- Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997; 275:77-9.
- Karp CL, Wysocka M, Wahl LM, Ahearn JM, Cuomo PJ, Sherry B. Mechanism of suppression of cell-mediated immunity by measles virus. *Science* 1996; 273:228-31.
- Noma T, Mori A, Yoshizawa I. Induction of allergen-specific IL-12 responsiveness of lymphocytes after respiratory syncytial virus infection and prediction of onset of recurrent wheezing and bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 98:816-26.
- Busse W, Gern JE, Dick FC. The role of respiratory virus in asthma. In: *The Rising Trends in Asthma*. Edited by the Ciba Foundation, Chichester: Wiley; 1997; 206:208-13.
- Parronchi P, De Carli M, Manetti R, Simonelli C, Sampognaro S, Piccini MP, et al. IL-4 and IFN (alpha and gamma) exert opposite regulatory effects on the development of cytolytic potential by Th1 or Th2 human T cell clones. *J Immunol* 1992; 149:2977-83.
- Holt PG. Infections and the development of allergy. *Toxicology Letters* 1996; 86:205-10.
- Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996; 4:430-5.
- Hopkin JM, Farooqui IS. Microbial exposure in childhood and atopy: pertussis immunization and oral antibiotics. *Thorax* 1997, 52 (Suppl6):A8(S29).
- Zhou P, Sieve MC, Bennet J, Kwon-Chung KJ, Tewari RP, Gazzinelli RT, et al. IL-12 prevents mortality in mice infected with *Histoplasma capsulatum* through induction of IFN-gamma. *J Immunol* 1995; 155:785-95.
- Dockery DW, Speizer FE, Stram DO, Ware JH, Spengler JD, Ferris BJ. Effects of inhalable particles on respiratory health of children. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:587-94.
- Koschy KS, Jörres R, Nowak D, Magnussen H, Speckin P, et al. The effect of ozone exposure on allergen responsiveness in subjects with asthma or rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:56-64.
- Braun-Fahrländer C, Vuille JC, Sennhauser FH, Gnehm HP, Rutishauser M, Wanner HV. Respiratory health and long-term exposure to air pollutants in Swiss schoolchildren. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:1042-9.

31. Neas LM, Dockery DW, Ware JH, Splenger JD, Ferris BG, Speizer FE. Concentration of indoor particulate matter as a determinant of respiratory health in children. *Am J Epidemiol* 1994; 139:1088-99.
32. US Environmental Protection Agency, 1991. National air quality and emissions trends report. Office of Air Quality Planning and Standards, Research Triangle Park, NC 450-R-92-001.
33. Goldstein BD, Lodi C, Collinson C, Balchrem OJ et al. Ozone and lipid peroxidation. *Arch Environ Health* 1969; 18: 631-5.
34. Bhalla DK, Young C. Effects of acute exposure to O₃ on rats: sequence of epithelial and inflammatory changes in the distal airways. *Inhal Toxicol* 1992; 4:17-31.
35. Koren HS, Devlin RB, Graham DE, Mann R, Mcgee MP, Horstman DH et al. Ozone-induced inflammation in the lower airways of human subjects. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:407-15.
36. McDonnell WF, Horstman DH, Hazucha MJ, Scal E, Haak ED, Salaam ST et al. Pulmonary effects of ozone exposure during exercise: dose response characteristics. *J Appl Physiol* 1983; 5:1345-52.
37. Devlin RB, McDonnell WF, Mann R, Beckers A, House DE, Schreinemachers D, et al. Exposure of humans to ambient levels of ozone for 6,6 hours causes cellular and biochemical changes in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;4:72-81.
38. Committee of the Environmental and Occupational Health Assembly of the American Thoracic Society. Health Effects of Outdoor Air Pollution- State of the Art. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:3-50.
39. Platts-Mills TAE, Vervloet D, Thomas Wr, Aalbense RC, Chapman MD. Indoor allergens and asthma: Report of the Third International Workshop. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:S1-24.
40. Calhoun WJ, Dick EC, Schwartz LB, Busse WW, et al. A common cold virus, rhinovirus 16, potentiates airway inflammation after segmental antigen bronchoprovocation in allergic subjects. *J clin Invest* 1994; 94: 2200-8.
41. Michel O, Kips J, Duchateau J, Vertongern F, Robert L, Collet H, et al. Severity of asthma is related to endotoxin in house dust. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1641-6.
42. Molfino NA, Wright SC, Katz I, Tarlo S, Silverman F, McLean PA et al. Effect of low concentrations of ozone on inhaled allergen responses in asthmatic patients. *Lancet* 1991; 338:199-203.
43. Menon P, Rando RJ, Stankus RP, Salvaggio E, Lehrer SB et al. Passive cigarette smoke challenge studies: increase in bronchial hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:560-66.
44. Chua KY, Stewart GA, Thomas WR, Simpson RJ, Dilworth RJ, Plozza TM, et al. Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der p 1. *J Exp Med* 1988; 167:175-82.
45. Dilworth RJ, Chua KY, Thomas WR. Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der f 1. *Clin Exp Allergy* 1991; 21:25-32.
46. Stewart GA, Thompson PJ, Simpson RJ. Protease antigens from house dust mite. *Lancet* 1989; ii:154-5.
47. Yasueda H, Mita H, Akiyama K, Shida T, Ando T, Sugiyama S, et al. Allergens from Dermatophagoides mites with chymotryptic activity. *Clin Exp Allergy* 1993;23:384-90.
48. Tovey ER, Chapman MD, Platts-Mills TAE. Mite faeces are a major source of house dust allergens. *Nature* 1981; 289:592-3.
49. Tovey ER, Chapman MD, Wells CW, Platts-Mills TAE, et al. The distribution of dust mite allergen in the houses of patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124:630-5.
50. Platts-Mills TAE, Mitchell EB, Tovey ER, Chapman MD, Wilkins SR et al. Airborne allergen exposure, allergen avoidance and bronchial hyperreactivity. In: Kay AB, Austen KF, Lichtenstein LM, eds. *Asthma: Physiology, Immunopharmacology and Treatment*. 3rd Int Symp. London: Academic Press; 1984. p.297-314.
51. Lemarchand P, Chinnet T, Collignon MA, Urzua G, Barritant L, Huchan GJ, et al. Bronchial clearance of DTPA is increased in acute asthma but not in chronic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:147-52.
52. Erjefalt JS, Sundler F, Persson CGA. Eosinophils, neutrophils, and venular gaps in the airway mucosa and epithelial removal restitution. *Am J Resp Crit Care Med* 1996; 153:1666-74.
53. Hewitt CRA, Brown AP, Hart BJ, Prichtard DI, et al. A major house dust mite allergen disrupts the immunoglobulin E network by selectively cleaving CD23:innate protection by antiproteases. *J Exp Med* 1995; 182:1537-44.
54. Helm BA. Is there a link between the nature of agents that trigger mast cells and the induction of immunoglobulin (Ig) E synthesis? In: Atassi MZ, ed. *Immunobiology of Proteins and Peptides*. VII Edn. New York: Plenum Press; 1994. p.1-10.
55. Thompson AB, Robbins RA, Romberger DJ, Sisson JH, Spurzem JR, Teschler H, et al. Immunological functions of the pulmonary epithelium. *Eur Respir J* 1995; 8:127-49.
56. Boucher RC. Human airway ion transport: Part two. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:581-93.
57. Miles EA, Warner JA, Jones AC, Colwell BM, Bryant TN, Warner JO, et al. Peripheral blood mononuclear cell proliferative responses in the first year of life in babies born to allergic parents. *Clin Exp Allergy* 1996; 26:780-8.
58. Kuehr J, Frischer J, Meiner R. Mite exposure is a risk factor for the incidence of specific sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94:44-52.
59. Wickman M, Nordvall SL, Pershagen G, et al. House dust mite sensitization in children and residential characteristics in a temperate region. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88:89-95.
60. Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TAE. Exposure to house dust mite allergen (Der p I) and the development of asthma in childhood: a prospective study. *N Engl J Med* 1990; 323:502-7.
61. Peak JK, Tovey ER, Toelle BG, Haby MM, Gray ES, Mahmic A, et al. House-dust mite allergens: a major risk factor for childhood asthma in Australia. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:141-6.
62. Platts-Mills TAE, Sporik RB, Wheatley LM. Is there a dose-response relationship between exposure to indoor allergens and symptoms of asthma? Editorial. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:435-40.
63. Bradford-Hill A. Environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 1965; 58:265-300.
64. Marks GB, Tovey ER, Toelle BG. Mite allergen (Der p 1) concentration in houses and its relation to the presence and severity of asthma in a population of Sydney schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96:441-8.

65. Luczynska CM, Li Y, Chapman MD, Platts-Mills TAE, et al. Airborne concentrations and particle size distribution of allergen derived from domestic cats (*Felis domesticus*). Measurements using cascade impactor, liquid impinger and a two site monoclonal antibody assay for Fel d I. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:361-7.
66. Van Metre TE Jr, Marsch DG, Adkinson NF Jr, Fish JE, Kagly-Sobotka A, Norman PS, et al. Dose of cat (*Felis domesticus*) allergen 1 (Fel d 1) that induces asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78:62-75.
67. Call RS, Smith TF, Morris E, Chapman MD, Platts-Mills, TAE, et al. Risk factors for asthma in inner city children. *J Peds* 1992; 121:862-66.
68. Rosenstreich DL, Eggleston P, Kattan M, Baker D, Slavim RG, Gerger, et al. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *N Engl Med* 1997; 336:1356-63.
69. Squillace SP, Sporik RB, Rakes G, Conture N, Laurence A, Merrian, et al. Sensitization to dust mites as a dominant risk factors for adolescent asthma: Multiple regression analysis of a population-based study. *Amer J Resp Crit Care Med* 1997;
70. Platts-Mills TAE, de Weck A. Dust mite allergens and asthma -a world wide problem. *Bull WHO* 1989; 66:769-80.
71. Sensi L, Piacentini G, Nobile E, Ghebregabher M, Brunori R, Zanollan L, et al. Changes in nasal specific IgE to mites after periods of allergen-exposure avoidance: a comparison with serum levels. *Clin Exp Allergy* 1994;24:377-82.
72. Peroni DG, Boner AL, Vallone G, Antolini I, Warner JO, et al. Effective allergen avoidance at high altitude reduced allergen-induced bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149:1442-6.
73. Piacentini GL, Martinati LM, Mingoni S, Boner AL et al. Influence of allergen avoidance on the eosinophil phase of airway inflammation in children with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1079-84.
74. Carswell F, Birmingham K, Weeks J, Oliver J, Creves A, et al. The respiratory effects of reduction of mite allergen in bedrooms of asthmatic children: a double blind controlled trial. *Clin Exp Allergy* 1996;26:386-96.
75. Kuehr J, Frischer T, Karmaus W, Meinert R, Barth R, Schraud S, et al. Natural variation in mite antigen density in house dust and relationship to residential factors. *Clin Exp Allergy* 1994; 24:229-37.
76. Sundell J, Wickman M, Pershagen G, Nordvall S et al. Ventilation in homes infested by house-dust mite mites. *Allergy* 1995; 50:106-12.
77. van Strien RT, Verhoeff AP, Brunekreef B, van Wijnen JH. Mite antigen in house dust: relationship with different housing characteristics in the Netherlands. *Clin Exp Allergy* 1994; 24:843-53.
78. Luczynska CM, Bond J, Burney PGJ. Influence of floors and furnishings on Der p 1 in bedrooms. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:324.