



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

SARA MENEZES DE OLIVEIRA

**RESPOSTA IMUNO-ALÉRGICA DE PACIENTES COM
ESQUISTOSSOMOSE EM REGIÃO DE BAIXA
ENDEMICIDADE**

FORTALEZA

2011

SARA MENEZES DE OLIVEIRA

**RESPOSTA IMUNO-ALÉRGICA DE PACIENTES COM
ESQUISTOSSOMOSE EM REGIÃO DE BAIXA ENDEMICIDADE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador:

Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz

Co-orientador:

Prof. Dr. Fernando Schemelzer Moraes Bezerra

FORTALEZA

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- O45r Oliveira, Sara Menezes de.
 Resposta imuno-alérgica de pacientes com esquistossomose em região de baixa endemicidade /
Sara Menezes de Oliveira. – 2011.
 84 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina,
Departamento de Patologia e Medicina Legal, Programa de Pós-Graduação em Patologia,
Mestrado em Patologia, Fortaleza, 2011.
 Área de Concentração: Patologia.
 Orientação: Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz.
 Coorientação: Prof. Dr. Fernando Schemelzer Moraes Bezerra.
1. Esquistossomose. 2. Schistosoma mansoni. 3. Hipersensibilidade. I. Título.

CDD 616.963

SARA MENEZES DE OLIVEIRA

**RESPOSTA IMUNO-ALÉRGICA DE PACIENTES COM
ESQUISTOSSOMOSE EM REGIÃO DE BAIXA ENDEMICIDADE**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz (Orientador)

Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Antonio Wilson Vasconcelos (Membro)

Faculdade Christus

Profª. Dra. Maria de Fátima Oliveira (Membro)

Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Máx Vítor Carioca Freitas (Membro)

Universidade Federal do Ceará - UFC

**“Somente com o coração
podemos ver com clareza.
O essencial é invisível aos olhos.”**

Antoine de Saint-Exupéry

À minha avó Envagelina (in memorian), que tanto me apoiou enquanto pôde. E hoje, onde quer que esteja, com certeza está abençoando essa conquista.

À minha família, que é meu alicerce, minha base. Meus melhores amigos que estão ao meu lado em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre ao meu lado, zelando por mim e me guiando em cada novo passo de minha vida.

Aos meus pais Lúcia e Moacir, por todo amor e apoio que sempre me deram, em todos os momentos de minha vida. Minha base e meu referencial. A quem devo e agradeço tudo que sou hoje.

Aos meus irmãos, Luciana e Moacir Júnior, pela amizade, compreensão e suporte que me deram para que eu pudesse chegar ao fim de mais essa etapa.

Às minhas sobrinhas Maria Lúcia, Ana Luiza e Alícia, pelos inúmeros momentos de alegria que me proporcionaram, onde sempre me renovavam as forças para continuar.

A todos os meus familiares, que direta ou indiretamente, me deram força e incentivo nessa jornada.

Ao Prof. Dr. José Ajax, pela orientação para o trabalho e para a vida. Por todo apoio e compreensão. Sinceros agradecimentos e inestimável admiração.

Ao Prof. Dr. Fernando Bezerra, pelo incentivo e apoio desde o princípio dessa jornada. Pela estrutura concedida e confiança depositada.

À minha anja, Teiliane Rodrigues, por toda amizade e incentivo. Pelo auxílio constante em cada etapa dessa jornada e pelas longas e prazerosas madrugadas de conversa e trabalho.

Ao Prof. Dr. Máx Vitor, pelo apoio e pelas valiosas contribuições que sempre deu a este trabalho.

Ao meu amigo Noé fonseca, sem o qual eu sequer teria conseguido iniciar esse processo.

Aos meus grandes amigos, em especial, Natália Nogueira, João Paulo Ferreira, Karlo David Sabóia, Adriana Rodrigues e Washington Tomaz por sempre ouvirem minhas angústias, por serem meu porto seguro e compreeederem tão bem minhas ausências em todo esse período.

A todos do Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos, em especial, Marta, Ana Lúcia, Taís e Vanessa, pelos laços de amizade construídos e por todo o companheirismo.

À toda a equipe do LAC Dr. José Maria Leitão, em especial a Amanda Lourenço, pela ajuda e tempo dedicados à realização dos testes.

A equipe do Laboratório de Hemoglobinopatia e Doenças Hematológicas Genéticas (LHDHG) em especial à Profa. Dra. Romélia e ao Eduardo, pela ajuda e dedicação prestados.

A equipe do Centro de Referência em Diagnóstico do Cancêr na Criança e no Adolescente Dr. Murilo Martins, em especial Dr. Jesamar, Dra. Socorro e Hélio. Pela ajuda, estrutura cedida e ensinamentos .

À Secretaria de Saúde de Maranguape, na pessoa do Dr. Eduardo Maia – coordenador do Serviço de Controle de Zoonoses, assim como os funcionários deste setor, que muito ajudaram nos trabalhos de campo.

Ao Prof. Dr. Filipe Inácios e a Dra. Elza da Universidade de Évora, em Portugal, pelo auxílio com a elaboração e as análises estatísticas deste trabalho.

À alergologista Dra. Judith Arruda e toda a sua equipe, em especial a Luciana, pelo apoio e ensinamentos prestados.

À todos do Departamento de Patologia e Medicina Legal, pela ajuda fornecida.

À CAPES, pela bolsa a mim concedida.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram pra este trabalho. O meu muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Classes de endemicidade / carga parasitária* das infecções por esquistossomose.....	19
Figura 2: a. Ovo de <i>Schistosoma mansoni</i> na submucosa do intestino grosso; b. Granulomas epitelióides na parede intestinal, um deles centrado por ovo calcificado de <i>S. mansoni</i>	20
Figura 3: Estratégias viáveis para regulação da resposta imune alérgica.....	25
Figura 4: Localidade de estudo - Planalto Cajueiro – Maranguape – Ceará - 2010.....	33
Figura 5: Localização do município de Maranguape e da área de estudo.....	34
Figura 6: Fluxograma dos métodos realizados para formação dos grupos testados.....	35
Figura 7: Fluxograma das etapas desenvolvidas no presente estudo.	38
Figura 8: Kit Helm test®.....	39
Figura 9: Placa de experimento do ELISA.....	40
Figura 10: Reação do Prick test.....	42
Figura 11: Aquisição de células por citometria de fluxo, com linfócitos evidenciados em vermelho. .	44
Figura 12: Faixa etária dos indivíduos participantes do estudo e residentes do Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.	46
Figura 13: Densidade Óptica (DO) das amostras dosadas para IgG anti- <i>S. mansoni</i> através da técnica de ELISA.....	48
Figura 14: Resultado da pesquisa por outros parasitos através do método de Lutz nos grupos estudados	49
Figura 15: Número de parasitos encontrados pelo método de Hoffman, nos indivíduos do estudo	49
Figura 16: Número de indivíduos alérgicos segundo os grupos do estudo	50
Figura 17: Média de valores da IgE dos quatro grupos estudados	51
Figura 18: Média de valores da contagem de eosinófilos dos quatro grupos estudados	52
Figura 19: Média de valores da contagem de linfócitos dos quatro grupos estudados	53
Figura 20: Média de valores da contagem de células CD19 dos quatro grupos estudados	54
Figura 21: Média de valores da contagem de células CD56 dos quatro grupos estudados	54
Figura 22: Média de valores da contagem de células CD3+CD4+ dos quatro grupos estudados	55
Figura 23: Média de valores da contagem de células CD3+CD8+ dos quatro grupos estudados	56
Figura 24: Média de valores da contagem de células CD3+CD4+CD8+ dos quatro grupos estudados	56

Figura 25: Média de valores da contagem de células somente CD3+ dos quatro grupos estudados	57
Figura 26: Porcentagem dos participantes de acordo com faixa etária - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.	58
Figura 27: Porcentagem dos participantes reativos no Prick- Test, segundo o grau de escolaridade - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.....	58

RESUMO

A esquistossomose é uma parasitose causada por Platelminhos, do gênero *Schistosoma* e, embora não seja uma doença que cause um número elevado de mortes, apresenta um quadro de morbidade. No Ceará, o município de Maranguape possui a localidade com maior índice de positividade para a esquistossomose no estado, chamada Planalto do Cajueiro. Diversos trabalhos populacionais, demonstrando uma relação inversa entre parasitoses e o desenvolvimento de doenças alérgicas, tem gerado especulações sobre um efeito protetor (ou imunomodulador) dos parasitos em relação a alergia. Segundo a Hipótese da Higiene, a falta de intensas infecções, a higiene, a vacinação e o uso de antibióticos, presentes principalmente em países desenvolvidos, podem alterar o sistema imune, que passa a responder inadequadamente a algumas substâncias. Neste estudo, objetivamos avaliar a resposta imunoalérgica de pacientes diagnosticados com esquistossomose mansoni, moradores de uma área de baixa endemicidade. Para tanto, realizamos, primeiramente, o diagnóstico parasitológico da esquistossomose através do método de Kato-Katz e, posteriormente, o diagnóstico de outras parasitoses através do método de Lutz. Ao final das coletas, foram encontrados 39 pacientes positivos para esquistossomose e selecionados, aleatoriamente, 52 pacientes negativos para esta parasitose. Foi realizada uma coleta sanguínea, em todos os 91 pacientes, para a realização do hemograma, dosagem de IgE, dosagem de IgG anti-*S. mansoni* e contagem das sub-populações linfocitárias através da citometria de fluxo. Além disso, no ato da coleta, foi realizado o Prick test para cinco alérgenos ambientais. Dos 39 indivíduos do grupo positivo, apenas 7 foram positivos para o Prick test, enquanto dos 52 indivíduos do grupo negativo, 20 apresentaram algum tipo de reação. A eosinofilia e o aumento da concentração de IgE se mostraram presente nos pacientes alérgicos e parasitados. O perfil linfocitário dos pacientes parasitados apresentou um aumento do número de linfócitos CD3+CD4+ e linfócitos CD3+CD8+. Diante dos resultados obtidos podemos concluir que: A presença da infecção pelo *S. mansoni* se mostrou um fator protetor para o desenvolvimento da alergia; o aumento da concentração de IgE está diretamente relacionado com doenças parasitárias e alérgicas; há uma maior concentração de eosinófilos nos pacientes parasitados; pacientes parasitados pelo *S. mansoni* desenvolveram um aumento do número dos linfócitos CD3+CD4+ e linfócitos CD3+CD8+; o desenvolvimento de reações alérgicas foi inversamente proporcional à idade dos indivíduos. Estudos complementares dos mecanismos envolvidos nesta relação parasito/alergia podem contribuir com novos tratamentos para a alergia

Palavras-chave: Esquistossomose. *Schistosoma mansoni*. Hipersensibilidade.

ABSTRACT

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by flatworms, *Schistosoma* genus and, although not a disease that causes a high death toll, presents a framework for significant morbidity. In Ceará, Maranguape city has the location with higher positive for schistosomiasis in the state, called Planalto do Cajueiro. Several population studies showing an inverse relationship between parasites and the development of allergic diseases, has raised speculations about a protective effect (or immunomodulating) of parasites in relation to atopy. According to the Hygiene Hypothesis, the lack of intense infections, hygiene, vaccination and antibiotic use, mainly present in developed countries, can modify the immune system, which is responding inadequately to some substances. This study aimed to evaluate the immune-allergic reactions of patients diagnosed with schistosomiasis, living in an area of low endemicity. Therefore, we performed first the parasitological diagnosis of schistosomiasis by the Kato-Katz and later diagnosed with other parasitic diseases by Lutz's method. At the end of the sampling, 39 patients were found positive for schistosomiasis and we randomly selected 52 patients negative for this disease. A blood collection was performed in all 91 patients for complete blood count, IgE, IgG anti-*S.mansoni* and counting of lymphocyte subpopulations by flow cytometry. Furthermore, Prick test were performed, using five environmental allergens. Of the 39 subjects in the (*S.mansoni*) positive group, only 7 were positive to Prick test, while the 52 subjects in the negative (*S.mansoni*), 20 had some kind of reaction. Eosinophilia and increased levels of IgE were shown in allergic and *S.mansoni* infected patients. The profile of lymphocytes in infected patients showed an increased number of cells CD3 + CD4 + and CD3 + CD8 +. Based on these results we conclude that: The presence of infection by *S. mansoni* showed to be a protective factor for the development of allergy; the increased concentration of IgE is directly related to allergic and parasitic diseases, with a higher concentration of eosinophils in infected patients, patients infected with *S. mansoni* developed an increased number of cells CD3 + CD4 + and CD3 + CD8 +, and the development of allergic reactions was inversely proportional to age of individuals. Further studies of the mechanisms involved in this parasite relationship can contribute to the development new treatments for allergy.

Keywords: Schistosomiasis. *Schistosoma mansoni* . Hypersensitivity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Esquistossomose: Aspectos importantes	16
1.1.1 Definição	16
1.1.2 Epidemiologia	16
1.1.3 Diagnóstico.....	18
1.1.4 Imunidade.....	19
1.2 Resposta imune nas alergias.....	23
1.2.1 A Hipótese da Higiene e as doenças alérgicas	27
2 OBJETIVOS	31
2.1 Objetivo geral.....	31
2.2 Objetivos específicos.....	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1 Tipo de estudo	32
3.2 Área de estudo.....	32
3.3 População de estudo	33
3.4 Critérios de inclusão.....	35
3.5 Critérios de exclusão	35
3.6 Aplicação do questionário.....	36
3.7 Coleta do material	36
3.7.1 Coleta parasitológica.....	36
3.7.2 Coleta sanguínea	37
3.8 Métodos diagnósticos.....	37
3.8.1 Método de Kato-Katz	38
3.8.2 Dosagem de anticorpos IgG anti-Schistosoma por Elisa (Colley <i>et al.</i> ,1977, com modificações)	39
3.8.3 Exame parasitológico de fezes (segundo Lutz)	41
3.8.4 Prick test (Teste de Puntura)	41

3.8.5 Hemograma	42
3.8.6 Determinação das sub-populações linfocitárias – CD3, CD4, CD8, CD19, CD56 (citometria de fluxo)	43
3.8.7 Dosagem de IgE por ELISA em soro	44
3.9 Tratamento	45
3.10 Aspectos éticos	45
3.11 Análise estatística	45
4 RESULTADOS	46
4.2 Diagnóstico da Esquistossomose mansoni e de outras parasitoses	47
4.2.1 Método de Kato-Katz	47
4.2.2 Método de Elisa	47
4.2.3 Nova formação dos grupos	48
4.2.4 Método de Lutz	48
4.3 Resposta a alérgenos ambientais	50
4.3.1 Prick test	50
4.4 Resposta imunológica	51
4.4.1 Dosagem de IgE	51
4.4.2 Contagem de eosinófilos	51
4.4.3 Contagem das sub-populações linfocitárias	53
4.5 Alergia x fatores sócio ambientais	57
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÕES	67
7 REFERÊNCIAS	68
APÊNDICE A	81
APÊNDICE B	83

1 INTRODUÇÃO

1.1 Esquistossomose: Aspectos importantes

1.1.1 Definição

A esquistossomose é uma parasitose causada por Platelminotos, do gênero *Schistosoma* e, embora não seja uma doença que cause um número elevado de mortes, apresenta um quadro de morbidade significativo. Representa um grave problema de saúde pública em 76 países da África, Ásia e América. Deve-se ressaltar que 85% dos indivíduos infectados encontram-se na África Subsaariana (CHITSULO *et al.*, 2000).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, é uma doença milenar que afeta mais de 200 milhões de indivíduos (WHO, 1993). Está classificada entre as doenças tropicais negligenciadas- DTN (MOLYNEUX *et al.*, 2005; HOTEZ *et al.*, 2006), e continua como uma das mais importantes doenças parasitárias nos trópicos e regiões subtropicais, constituindo um importante problema de saúde pública (STEINMANN *et al.*, 2006).

1.1.2 Epidemiologia

A esquistossomose é endêmica em 76 países e territórios. Em meados de 2003, calculou-se que 779 milhões de pessoas estavam dentro da população de risco para esquistossomose, e 207 milhões de pessoas estavam infectadas (WHO, 2008). Atualmente, a transmissão da esquistossomose está se espalhando para áreas não endêmicas, tais como os países ocidentais (BOTTIEAU *et al.*, 2006) e o Japão (KATO-HAYASH *et al.*, 2010). Os programas de controle de morbidade aplicados em grande escala, o desenvolvimento sócio-econômico, bem como as alterações ambientais, incluindo, por vezes a introdução deliberada de espécies concorrentes para o caramujo, levaram a interrupção da transmissão ou eliminação da doença em alguns países, bem como reduções consideráveis de pessoas infectadas e de morbidades atribuíveis à doença no Brasil (STEINMANN *et al.*, 2006).

Uma revisão de King *et al.* (2000) demonstrou que o número de DALYs (Disability Adjusted Life Years) causado pela infecção por *S. mansoni* está subestimado,

demonstrando assim que a esquistossomose é uma endemia de impacto significativamente mais importante do que previamente descrito.

No Brasil, tradicionalmente, esta doença é considerada uma endemia rural, mas nas últimas três décadas do século XX, observou-se a progressiva redução da prevalência da esquistossomose em muitas localidades e o crescente número de casos em grandes centros urbanos. Essa mudança foi, em grande parte, decorrente do significativo êxodo rural, a partir dos anos 60, na busca por trabalho nas cidades de maior porte. Estas pessoas são freqüentemente marginalizadas do processo econômico, e muitas vem residir em áreas urbanas sem as mínimas condições básicas de saneamento. Nessas áreas existem cursos naturais de água com características adequadas para o desenvolvimento natural dos planorbídeos (moluscos), tornando esses locais focos de transmissão do *S. mansoni*. Assim, no Brasil, tem-se evidenciado a urbanização da doença, com o surgimento de casos autóctones nas regiões periurbanas das grandes cidades brasileiras (GUIMARÃES; TAVARES-NETO, 2006).

No estado do Ceará têm-se as primeiras notificações da esquistossomose a partir dos trabalhos científicos publicados por Maciel em 1925, no qual encontrou positividade de 2,8% dos 114 marinheiros cearenses estudados; a seguir em 1934, Davis, realizando diagnóstico da febre amarela em 7.387 amostras de fígado colhidas no Ceará, encontrou positividade de 0,66% para *S. mansoni*. Em 1938, Evandro Chagas realizou diagnósticos para esquistossomose no município do Crato, sul do estado. Mas apenas em 1940 foi realizado o primeiro inquérito coproscópico no Ceará, por Alencar, que encontrou casos autóctones na cidade de Redenção, com positividade de 12,2% em 199 amostras estudadas (ALMEIDA, 1999).

No Ceará, dados do Programa de Controle da Esquistossomose – PCE, indicam que atualmente o município de Maranguape possui a localidade com maior índice de positividade para a esquistossomose no Estado, chamada Planalto do Cajueiro, nossa área de estudo, na qual, segundo os últimos levantamentos realizados, a prevalência aumentou de 8,53% em 2006 para 13,76% em 2007.

1.1.3 Diagnóstico

Para diagnóstico da esquistossomose mansoni utilizam-se exames clínicos e laboratoriais. Embora as manifestações clínicas sejam inespecíficas, o diagnóstico clínico baseia-se no exame clínico (palpação do abdômen, para verificar o crescimento do fígado e do baço), em informações sobre o histórico do paciente, local de moradia, estadia em áreas de risco, contato com coleções hídricas possivelmente contaminadas e sintomatologia apresentada (CARVALHO *et al.*, 2008).

Rotineiramente, o diagnóstico laboratorial da esquistossomose é baseado na detecção de ovos do parasito nas fezes (UTZINGER *et al.*, 2001). O método de Kato-Katz (KATZ; CHAVES; PELEGRINO, 1972) é recomendado pela Organização Mundial de Saúde para o diagnóstico do *S. mansoni* e de outras infecções intestinais por helmintos (WHO, 2008), por ser quantitativo, de fácil execução, necessitar de pouco material e ter uma alta especificidade (LIN *et al.*, 2008). É importante ressaltar que as técnicas parasitológicas de fezes variam consideravelmente quanto a sensibilidade, dependendo da quantidade de fezes examinadas, do número de ovos eliminados e de fatores inerentes a perda intrínseca durante a realização do procedimento (ENGELS *et al.*, 1996),

O diagnóstico laboratorial da doença pode ser realizado também por métodos indiretos, que se baseiam na identificação de antígenos e anticorpos específicos e determinação de indicadores bioquímicos e patológicos, que estão associados à infecção por *S. mansoni* (GARGIONI *et al.*, 2008). No que diz respeito às avaliações baseadas na identificação de anticorpos, vale ressaltar que essas não indicam obrigatoriamente infecção ativa, pois os anticorpos circulantes podem permanecer após a cura da infecção, desse modo o resultado das provas imunológicas pode continuar positivo mesmo anos depois da cura (CVE-SP, 2009).

Os métodos imunológicos para o diagnóstico da esquistossomose assumem cada vez mais importância devido a sua especificidade, sensibilidade, rapidez e simplicidade. As técnicas de detecção de anticorpos continuam sendo instrumento de valor indubitável a ser utilizado em estudos populacionais, assim, a sua incorporação aos programas de controle, em área de baixa endemicidade (Figura 1), é imprescindível (NOYA *et al.*, 1999). Entretanto, esses métodos eventualmente podem ter baixa especificidade, apresentando resultados falso-positivos, devido a reação cruzada com outros parasitos, e geralmente não conseguem fazer

distinção entre infecções ativas e passadas, o que é particularmente importante em áreas endêmicas (DOENHOFF *et al.*, 2004).

A técnica imunológica indicada para o diagnóstico em massa da esquistossomose é a técnica de ELISA (NOYA *et al.*, 2006). Diante das limitações já citadas, este método vem sendo proposto para ser utilizado em triagem diagnóstica, no Programa de Controle da Esquistossomose (NOYA *et al.*, 2002).

A introdução de métodos sorológicos em estudos epidemiológicos, identificando locais com potencial de infecção, pode contribuir para a redução da transmissão em áreas de baixa endemicidade (SOARES *et al.*, 2003).

Endemicidade / Carga Parasitária*	<i>S. mansoni</i>
Baixa	1 – 99 opg**
Moderada	100 – 399 opg
Alta	> 400 opg

Figura 1: Classes de endemicidade / carga parasitária* das infecções por esquistossomose.

Fonte: OMS (2002).

(*) por exame de amostras de fezes

(**) opg: ovos / grama de fezes

1.1.4 Imunidade

A resposta imune aos helmintos é caracterizada por forte inclinação para resposta do tipo Th2, com aumento da produção de IL-4 por células mononucleares do sangue periférico e aumento da IgE total. Os mecanismos de resposta imune nas infecções helmínticas são múltiplos devido ao tamanho e à diversidade metabólica dos parasitos, que são antigenicamente complexos. Um problema adicional é o fato de que os parasitos podem sobreviver por muitos anos no hospedeiro, utilizando diversos mecanismos de escape, a exemplo do que acontece com o *S. mansoni*, que se torna coberto por antígenos do hospedeiro, evadindo-se, portanto, da resposta do sistema imunológico (NEVA *et al.*, 1994).

A investigação de mecanismos imunes dependentes de linfócitos T envolvidos na resistência ou patologia da esquistossomose tornar-se ainda mais instigante, após a descrição das subpopulações de células T auxiliares. Enquanto células Th1 secretam principalmente interferon- γ (IFN- γ), IL-2 e linfotoxina (LT) e estão associadas à imunidade celular e a

reações de hipersensibilidade do tipo tardia (DTH) (CHER; MOSMANN, 1987), as células Th2 secretam principalmente IL-4, IL-5 e IL-10, sendo mais efetivas como promotores na estimulação de linfócitos B, para secreção de anticorpos (STEVENS *et al.*, 1988).

Na esquistossomose, o sistema imune do hospedeiro é exposto a uma série de antígenos derivados do parasito e do ovo que induzem intensa resposta celular e humoral. É uma doença que tem sua patogenia decorrente basicamente da reação inflamatória granulomatosa em torno dos ovos retidos nos tecidos do hospedeiro (Figura 2). Os antígenos secretados pelo ovo maduro atravessam a parede de sua casca e disseminam-se ao seu redor, estimulando a resposta imune e induzindo a reação granulomatosa (CHEEVER *et al.* 2000). Os ovos do *S. mansoni* depositados no fígado estimulam as células T CD4+, que ativam macrófagos e induzem reações de hipersensibilidade tardia, que resultam na formação do granuloma. Neste estágio, o granuloma é altamente celular constituído por um infiltrado de células com 50% de eosinófilos, 30% de macrófagos e 15% de linfócitos T e B (HUSSEIN *et al.*, 2005).

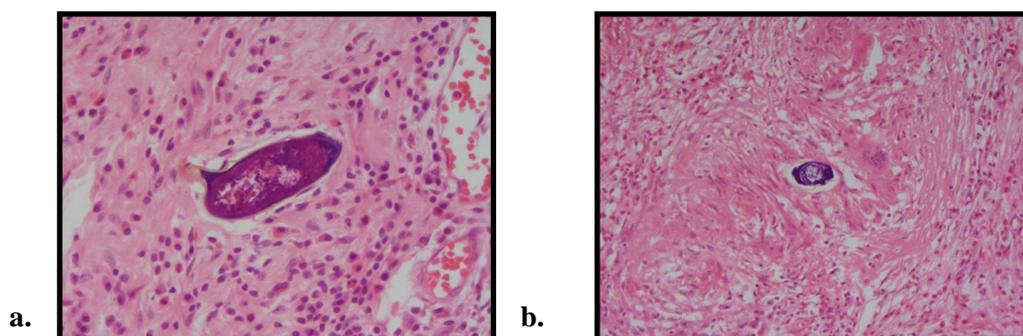


Figura 2: a. Ovo de *Schistosoma mansoni* na submucosa do intestino grosso; b. Granulomas epitelióides na parede intestinal, um deles centrado por ovo calcificado de *S. mansoni*.

Fonte: Adaptado de UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. Faculdade de Medicina da Bahia (2011).

Embora o complemento e outros fatores da resposta imune inata possam contribuir para a defesa contra a infecção por helmintos, a resposta imune específica com a produção de anticorpos e citocinas é importante. As células T CD4+ ou TCD8+ do tipo 2 são produtoras de citocinas como IL-4, IL-5 e IL-10 que, entre outras funções, induzem a produção de IgE pelas células B, assim como a ativação de eosinófilos, mastócitos e basófilos, respectivamente, componentes fundamentais na defesa contra helmintos. Anticorpos da classe IgE ligam-se aos basófilos circulantes ou mastócitos teciduais, induzindo a liberação de

histamina e outros mediadores da reação de hipersensibilidade imediata, que leva à destruição de helmintos (ELSE *et al.*, 1998).

A IgE produzida em altos níveis na resposta imunológica do tipo Th2 tem sido relacionada com defesa contra reinfecção pelo *S. mansoni*. Eosinófilos têm também a capacidade de destruir os esquistossômulos através do mecanismo de citotoxicidade celular dependente do anticorpo. As células do tipo Th2 estão associadas com a resistência à infecção não apenas por *S. mansoni*, mas também por helmintos intestinais, a exemplo do *Strongyloides stercoralis* e *Ascaris lumbricoides* (MacDONALD *et al.*, 2002). A IL-4 estimula a produção de IgE e, juntamente com a IL-13, a de mastócitos, resultando em um aumento da secreção de mediadores da inflamação, secreção de muco e aumento da contratilidade da musculatura intestinal, facilitando a expulsão dos vermes adultos (FINKELMAN *et al.*, 1997).

Na esquistossomose, a inflamação granulomatosa que ocorre ao redor dos ovos depositados no tecido é mediada por linfócitos T. Inicialmente, ocorre uma resposta Th1 aguda, direcionada ao verme adulto. Gradativamente há uma transição para Th2 após a deposição dos ovos pelo parasito. A falha no desenvolvimento de uma resposta Th2 efetiva, após a deposição dos ovos, resulta na exacerbação da inflamação granulomatosa, coordenada pelas células Th1 e Th17. Este tipo de resposta causa lesões no parênquima hepático circunjacente e pode resultar em morte. Entretanto, uma resposta Th2 prevalece e está associada com lesões leves, consistindo de pequenos e bem circunscritos granulomas, compostos de eosinófilos, macrófagos e linfócitos. Esta resposta é tipicamente menor nos casos crônicos de esquistossomose (STADECKER *et al.*, 2004).

A resposta imune aos helmintos na fase aguda é do tipo Th1, com maior produção de IFN- γ (CORREA-OLIVEIRA *et al.*, 1998) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), responsáveis pela ativação de macrófagos, indução de IgG que medeia a opsonização e a fagocitose de antígenos (De JESUS *et al.*, 2002). Já na fase crônica, a resposta imune consiste, em grande parte, na resposta do tipo Th2, onde se observam níveis elevados de IL-4, IL-5, além da secreção de IL-10 e conseqüente redução dos níveis de IFN- γ (MALAQUIAS *et al.*, 1997).

Já a IL-4 estimula a produção de anticorpos IgE helminto-específico, os quais recobrem os helmintos mediando a resposta imune do tipo citotóxica dependente de anticorpos. A IL-5, por sua vez, ativa os eosinófilos que se ligam aos helmintos recobertos pelo IgE através de receptores Fc específicos para cadeia pesada. Como os helmintos são muito grandes para serem englobados pelos fagócitos e o seu tegumento é relativamente

resistente aos produtos microbicidas dos neutrófilos e macrófagos, os eosinófilos podem ser mais eficazes para matar os helmintos do que os outros leucócitos, uma vez que a principal proteína básica dos grânulos produzida pelos eosinófilos é mais tóxica para os helmintos do que as enzimas proteolíticas e os intermediários reativos do oxigênio produzidos pelos neutrófilos e macrófagos. Embora, os macrófagos associados com IgE específicas anti-*S. mansoni* possam desenvolver uma forte atividade citotóxica contra o esquistossômulo, “in vitro”, os eosinófilos são abundantes nos infiltrados das reações inflamatórias e contribuem para o aparecimento dos processos patológicos nas doenças alérgicas. A contagem de eosinófilos no sangue periférico de indivíduos saudáveis varia de 400 a 600 células/mm³, sendo a minoria dos leucócitos (ABBAS; LICHTMAN, 2005).

Nem toda resposta imune Th2 é igual. Na resposta imune à infecção por helmintos, como o *S. mansoni*, (ARAÚJO *et al.*, 2004) o *S. haematobium* (Van den BIGGELAAR *et al.*, 2000) e o *Onchocerca volvulus* (DOETZE *et al.*, 2000), além da produção aumentada de IL-4 e IL-5, também ocorre produção aumentada de IL-10.

Em estudos realizados em área rural de Minas Gerais, pacientes portadores de infecção considerada moderada (>100 OPG) apresentavam maior nível de secreção de IL-10 e menor de IFN- γ quando comparados aos indivíduos negativos e portadores de níveis mais baixos de infecção (< 100 OPG). Isto indica que a intensidade da infecção é decisiva para produção de IL-10 e predomínio da resposta Th2 (SILVEIRA *et al.*, 2004).

As moléculas presentes no *S. mansoni*, não apenas induzem uma resposta Th2, mas também estimulam uma resposta supressora. Estudos demonstraram que produtos do parasito, como fosfatidilserina LYSO (LYSO-PS), que não está presente em mamíferos, podem modificar a função das células dendríticas de modo a estimular células Treg à produzir IL-10 (YAZDANBAKHSI, 2004). A IL-10 é uma citocina com ação imunossupressora que parece ser importante no estabelecimento da tolerância imunológica do hospedeiro a estes helmintos, que, em alguns casos, sobrevivem por até 30 anos (KLION *et al.*, 2004).

A IL-10 é uma citocina reguladora produzida tanto pela resposta imunológica inata quanto pela adaptativa e que é capaz de inibir as citocinas das respostas Th1 e Th2 e uma variedade de mecanismos imunes (SARAIVA, 2010). Essa citocina possui importante atividade anti-inflamatória e imunossupressora. Apesar de inicialmente ter sido descrita como uma citocina produzida por células Th2, agora está claro que ela é produzida por outras células T, como as Treg (reguladoras) (MOORE *et al.*, 2001), células T CD8⁺ (Gilliet *et al.*, 2002), além de macrófagos, células dendríticas (McGUIRK *et al.*, 2002) e células B (FILLATREAU *et al.*, 2002).

Por outro lado, em outras infecções helmínticas, como no caso do *Ascaris lumbricoides*, não existe produção aumentada de IL-10 (GEIGER *et al.*, 2002). Na resposta imune Th2 observada nas doenças alérgicas, a produção de IL-10 é reduzida e o haplótipo que determina a produção elevada desta citocina é menos freqüente em pacientes asmáticos do que em pacientes não asmáticos (LIM *et al.*,1998).

O surgimento de diversos estudos populacionais, demonstrando uma relação inversa entre parasitoses e o desenvolvimento de doenças alérgicas, tem gerado especulações sobre um efeito protetor (ou imunomodulador) dos parasitos em relação a atopia (Van den BIGGELAAR *et al.*, 2000). Estudos realizados no Equador encontraram uma relação inversa entre infecção por helmintos e teste cutâneo para alergia em crianças (MEDEIROS *et al.*, 2003). Outros trabalhos demonstraram tanto uma redução na prevalência de asma em adolescentes infectados por *S. mansoni*, quanto que a carga parasitária, a qual está inversamente associada com resposta positiva em testes cutâneos de indivíduos atópicos (PALMER *et al.*,2002).

Entretanto, é importante ressaltar que alguns estudos demonstraram que pacientes infectados com geohelmintos apresentavam maior freqüência de reatividade ao teste alérgico cutâneo (DOLD *et al.*,1998). Ademais, um ensaio clínico com pacientes moradores de favelas demonstrou que o tratamento com albendazol reduziu os sintomas de asma sugerindo que a infecção por geohelmintos poderia piorar a inflamação alérgica das vias respiratórias destes pacientes (LYNCH *et al.*, 1997).

1.2 Resposta imune nas alergias

Quando o sistema imune produz respostas exageradas ou reconhece como estranhos os componentes que são próprios do organismo, ocorrem os chamados processos alérgicos e as doenças auto-imunes, respectivamente. A autoimunidade - distúrbio que leva as defesas do organismo a uma autoagressão e é a base das doenças auto-imunes - é mais prevalente entre adultos. Os distúrbios auto-imunes são um tipo de desordem imunológica caracterizada pela diminuição da tolerância aos componentes do próprio organismo, de modo que ocorre uma falha no mecanismo de distinção entre antígenos constituintes e aqueles externos. Atingindo cerca de 3-5% da população mundial, essas doenças têm sua origem na complexa interação entre fatores ambientais e fatores intrínsecos ao organismo, tais como

predisposição genética, alterações hormonais e até mesmo uma redução no controle imunoregulatório (CALICH, 2001).

As doenças por imunocomplexos ou auto-imunes são divididas em sistêmicas e órgão-específicas. Dentre as doenças auto-imunes inflamatórias sistêmicas estão incluídas a artrite reumatóide e o lúpus eritematoso sistêmico. Em relação à auto-imunidade órgão-específica, na qual órgãos são alvo de dano auto-imune, destacam-se o diabetes mellitus tipo 1, a doença de Graves e a tireoidite de Hashimoto (HESS *et al.*,1998).

As doenças auto-imunes e alérgicas crescem em ritmo maior do que o ritmo populacional nos dias de hoje, porém isso ocorre muito mais em países desenvolvidos do que nos subdesenvolvidos. Dentro dos países ricos, isso também acontece mais entre populações da cidade do que do campo e, em países com uma grande disparidade social como o Brasil, mais entre as classes ricas e que entre as pobres (MORGAN *et al.*,1991).

O termo alergia, criado em 1906, pelo pediatra austríaco Clemens Von Pirquet, significa uma alteração da resposta imune do organismo, que causa uma reação exagerada a substâncias normalmente toleradas por indivíduos não alérgicos, como revisado por Jones *et al.* (2008).

Na América Latina, o Brasil tem se destacado como um dos países com maiores taxas de prevalência da asma e rinite alérgica, apesar de uma tendência de decréscimo ter sido observada em algumas cidades brasileiras (SOLE *et al.*, 2007). Outros países da mesma região, e que anteriormente apresentavam baixas prevalências, têm exibido um crescimento do número de casos de asma. Essas mudanças sugerem que a urbanização e a modernização têm trazido efeitos importantes no processo de desenvolvimento social e econômico de alguns países latino-americanos, com conseqüente adoção de um estilo de vida moderno pelas populações e modificações na exposição ambiental, refletindo no aumento de casos de patologias alérgicas (COOPER *et al.*, 2009).

Uma das funções do sistema imunológico é proteger o indivíduo contra agentes infecciosos. Entretanto, o funcionamento inadequado deste sistema pode ser a causa de doenças, como as alergias e as doenças auto-imunes. O sistema imunológico atua por meio de dois padrões de resposta imune adquirida: a resposta imune mediada por linfócitos T auxiliares do tipo 1 (T helper 1, Th1, em inglês), e a resposta imune Th2. A resposta imune Th1 ocorre normalmente na reação às infecções virais, bacterianas e nas doenças auto-imunes.

A resposta imune Th2 em reação às infecções helmínticas e nas doenças alérgicas, como a asma, a rinite e o eczema (PONTE *et al.*, 2007).

Doenças alérgicas são causadas por respostas alérgeno-específicas iniciadas pelas células Th2 CD4+. As células Th2 induzem o desenvolvimento e o recrutamento de eosinófilos, a contração da musculatura lisa das vias aéreas, produção de muco e IgE específica, a qual se liga aos receptores Fcε nos eosinófilos, basófilos e mastócitos, assim como medeia a granulação destes, pela ligação com a IgE, após o contato com o alérgeno (ARAÚJO, 2008).

A imunopatologia das alergias está ligada a uma exacerbação da resposta do tipo Th2, com produção principalmente de IL-4, IL-5 e IL-13 (Figura 3). A IL-4 promove a diferenciação de células T para o subtipo Th2. A IL-4 e a IL-13 induzem e mantêm a troca de classe de imunoglobulina no linfócito B para o isotipo IgE. A IL-4 promove a expressão do receptor de alta afinidade para IgE, na superfície dos mastócitos e basófilos, e de baixa afinidade na superfície das células B ativadas, monócitos e macrófagos (YSSEL *et al.*, 1993). A IL-4 induz ainda a expressão de molécula de adesão vascular nos eosinófilos e basófilos, além da produção de quimiocinas (ZHU *et al.*, 1999).

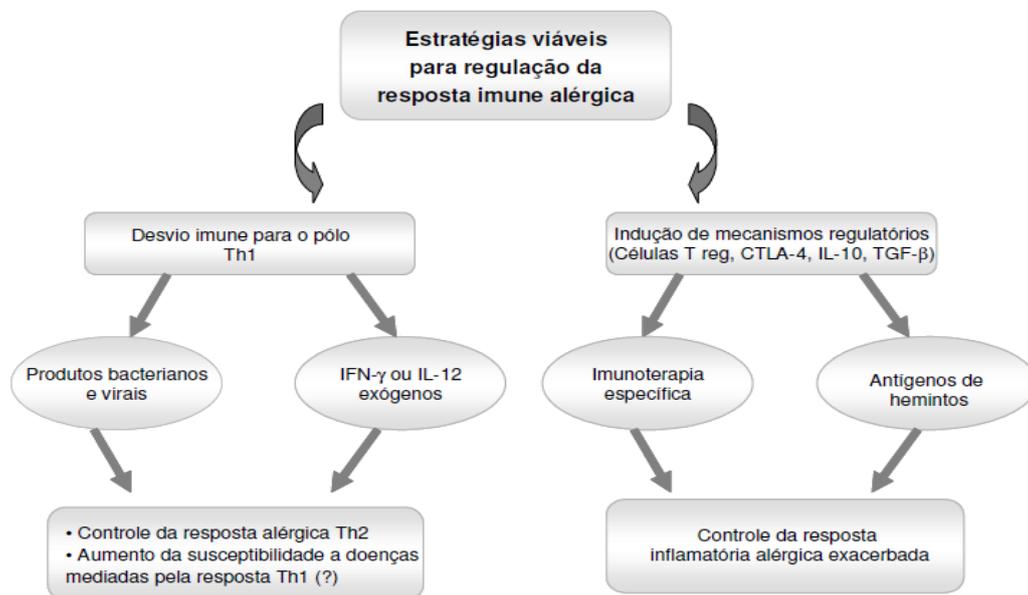


Figura 3: Estratégias viáveis para regulação da resposta imune alérgica.

Fonte: Adaptado de Araujo *et al.* (2009).

A IL-5, junto com IL-3 e ao GM-CSF (Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos), promovem a diferenciação de eosinófilos, a partir de precursores mielóides, além de atuar na ativação desta célula. O eosinófilo ativado expressa moléculas na superfície, como a E-selectina e o VLA-4, que estimulam a quimiotaxia destas células pela ligação a receptores no endotélio vascular (HOLT *et al.*, 2000). A IL-4, que também é produzida por mastócitos ativados, é um fator de diferenciação para células Th2, perpetuando o processo inflamatório (YSSELS *et al.*, 1993). Em indivíduos atópicos, ao primeiro contato com o alérgeno, a resposta imune é desviada para o tipo Th2, com produção de IgE específica. Esta imunoglobulina liga-se aos receptores de alta afinidade nos mastócitos. Contatos posteriores com o alérgeno resultam em interação do mesmo com as moléculas de IgE ligadas aos mastócitos, ocorrendo degranulação destes e liberação de mediadores inflamatórios, além das citocinas do tipo Th2 (PLATTS-MILLS; WHEATLEY, 1996). Esta fase se caracteriza pela ativação de terminações nervosas com produção de neurotransmissores que vão resultar em broncoconstrição, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, com exsudação de plasma, hipersecreção de muco e inflamação. Estes eventos iniciais da fase aguda começam aproximadamente 10 minutos após o contato com o alérgeno e duram cerca de 2 horas (FERREIRA, 2004).

A fase tardia desta resposta se inicia 2 a 4 horas após o contato com o alérgeno e tem duração média de 24 horas. Caracteriza-se pela quimiotaxia de neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos e pelo aumento da liberação de mediadores inflamatórios, como TNF. Como a patogenia das doenças alérgicas está associada a uma falta de regulação da resposta imune, a indução de mecanismos modulatórios da resposta exacerbada poderá conter ou minimizar a patogenicidade associada (FERREIRA, 2004).

Estima-se que, pelo menos, 20% da população mundial seja acometida por doenças alérgicas e nas últimas três décadas vem sendo observado um aumento na prevalência dessas doenças. Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar o grande aumento na prevalência das alergias nos países desenvolvidos.

Apesar dos elevados níveis de IgE total estimulada por helmintos, estes foram considerados como sendo capazes de bloquear os receptores Fcε presentes em mastócitos e, assim, competir pela ligação com qualquer IgE específica. Esta hipótese, mais conhecida como “Hipótese de bloqueio” poderia justificar a atividade pró-inflamatória, consequente da infecção por helmintos. Porém, diversos estudos já confirmaram que a hipótese de bloqueio não pode ser o único mecanismo que poderia explicar a associação negativa de infecções helmínticas e doenças alérgicas. Alguns destes parasitos mostraram-se capazes de produzir

moléculas imunomoduladoras que podem suprimir a resposta imune e ser benéfico para a sua sobrevivência a longo prazo no hospedeiro humano (YAZDANBAKHSI, 2004).

1.2.1 A Hipótese da Higiene e as doenças alérgicas

As doenças alérgicas são patologias que vêm apresentando um crescimento expressivo em suas prevalências nas últimas décadas, particularmente em comunidades desenvolvidas e com estilo de vida urbano. Essa tendência de aumento tem ocorrido em crianças e adultos e acredita-se que a predisposição genética individual, o contato com alérgenos e a exposição a fatores ambientais adjuvantes sejam determinantes importantes no crescimento do número de casos dessas doenças nas populações, o que faz da prevenção um tópico prioritário em Saúde Pública (WEINBERG, 2000; GARN; RENZ, 2007; WONG *et al.*, 2006).

Nas últimas três décadas vem sendo observado um aumento na prevalência de doenças alérgicas em países industrializados em relação aos países em desenvolvimento (SEARS, 1997; UMETSU *et al.*, 2002). O desencadeamento destas doenças envolve a predisposição genética e fatores ambientais, entretanto, evidências vêm se acumulando de que a resposta imune participa diretamente para o desenvolvimento das mesmas (CARRADA BRAVO, 2002).

Estudos recentes também têm mostrado que, nas localidades rurais, a asma e as doenças alérgicas são menos prevalentes (Von MUTIUS, 2007) e acredita-se que fatores ligados à pobreza desses locais, incluindo o estilo de vida das pessoas, padrões de dieta, famílias numerosas, infecções helmínticas, baixo nível socioeconômico e precárias condições de higiene, exerçam um efeito protetor no desenvolvimento dessas doenças (COOPER *et al.*, 2009).

Muitas hipóteses têm sido estudadas, levando em conta: as mudanças nas interações entre o homem e os microorganismos em virtude da melhoria das condições de higiene proporcionada pelas políticas de saúde mais eficientes, a ampliação das coberturas vacinais, o uso de antimicrobianos, melhoria das condições de vida e de saneamento e mudanças no estilo de vida das famílias, impondo pressão ao sistema imune do indivíduo para um perfil caracterizado predominantemente pela resposta Th2 (VALDIVIA, 2006). Nesse contexto, a principal linha de investigação epidemiológica focada no crescimento das doenças alérgicas gira em torno de uma teoria chamada “Hipótese da Higiene” (STRACHAN, 1989).

No final da década de 80, Strachan (1989) publicou um artigo mostrando que a febre do feno, que é um tipo de alergia sazonal, era mais comum em filhos únicos e menos freqüente em crianças de famílias numerosas. Diante disso, ele sugeriu a “Hipótese da Higiene”, pela qual a grande freqüência de infecções em grandes famílias poderia ser a responsável pela menor incidência das alergias (YAZDANBAKSHSH, 2004).

Segundo esta hipótese, a falta de intensas infecções, a higiene, a vacinação e o uso de antibióticos, presentes principalmente em países desenvolvidos, podem alterar o sistema imune, que passa a responder inadequadamente a algumas substâncias. Seria um desequilíbrio imunológico entre as respostas do tipo Th1 e Th2 no sistema imune. Desse modo, uma limitada exposição a bactérias e vírus na infância, resultaria em uma estimulação insuficiente das células Th1, o que não iria contrabalancear a expansão das células Th2 e resultaria numa predisposição à alergia (YAZDANBAKSHSH, 2002).

De acordo com a hipótese da higiene, a falta de regulação da resposta imune pela ausência de contato com antígenos que induzam uma resposta do tipo Th1, por infecções bacterianas ou virais, por exemplo, mantêm a resposta Th2 da criança, predispondo às doenças alérgicas (ROMAGNANI, 2004). As citocinas Th2 aumentam a produção de anticorpos, especialmente IgE, aumentam a proliferação de eosinófilos e são eficazes contra patógenos extracelulares, parasitos e no desenvolvimento de reações alérgicas (MOSMANN; SAD, 1996).

Infecções helmínticas e a correspondente resposta imune do hospedeiro são produtos de uma prolongada e dinâmica co-evolução na relação parasito versus hospedeiro. Todos os esforços do parasito devem ser direcionados a desencadear uma resposta imune modulada no hospedeiro, de tal forma que ele encontre um adequado nicho de maturação e proliferação, sem que haja a morte do hospedeiro. Utilizando uma extensão da teoria da higiene, supõe-se que a perda dessa modulação parasitária seja deletéria para o sistema imune, ficando este mais propenso ao desenvolvimento de doenças alérgicas e auto-imunes. Recentes estudos demonstraram que a administração de helmintos pode diminuir a resposta inflamatória em doenças alérgicas, enquanto a supressão destas infecções helmínticas pode gerar o ressurgimento da alergia (YAZDANBAKSHSH *et al.*, 2004).

Evidências epidemiológicas associadas aos fatores infecciosos e à suscetibilidade para as doenças alérgicas foram descritas por alguns estudos desenvolvidos na década de 90, corroborando a teoria da higiene. O mais consistente achado que deu suporte à Hipótese da Higiene foi a relação entre tamanho da família e doença alérgica. O tamanho da família, a

presença de elevado número de irmãos mais velhos ou mais novos e a ordem de nascimento foram descritos por muitos estudos como efeitos protetores para as doenças alérgicas (HARBY *et al.*, 2001; STRACHAN *et al.*, 1997).

Posteriormente à sua elaboração, a Hipótese da Higiene foi explorada por outros estudos, evoluindo para um conceito mais amplo que considera o declínio na exposição microbiana como um importante fator causal no aumento da incidência das doenças alérgicas, em anos recentes (BLOOMFIELD *et al.*, 2006).

É importante salientar que existem muitos tipos de testes para detecção de alergia. Entre os mais comuns estão os testes cutâneos, os testes por eliminação e o teste radioalergossorbente (RAST). Destes, os testes alérgicos cutâneos são os de preferência, pela facilidade de execução e interpretação, baixo custo e, além disso, podem-se testar inúmeros alérgenos ao mesmo tempo, sendo também um dos mais úteis nos casos de alergias nas quais o alérgeno é inalado, alergia a penicilina e alergias a picadas de insetos (PORTNOY, 2006).

Um dos testes cutâneos mais comuns é o Prick test ou teste de arranhadura ou teste de puntura, é um teste de hipersensibilidade imediata, que consiste no gotejamento de uma pequena quantidade de cada alérgeno sobre a pele (geralmente no antebraço, no braço ou nas costas) para, em seguida, arranhar ou perfurar a superfície da pele de modo que o alérgeno penetre na mesma. Os resultados são lidos em até 20 minutos. Baseiam-se no fato de que se existe IgE alérgeno-específica em um indivíduo, depois da introdução de pequena quantidade desse alérgeno na epiderme, por uma picada ou arranhão, ocorre a degranulação dos mastócitos, o que resulta em uma reação de pápula e eritema, sendo o tamanho desta, utilizada como medida da sensibilidade de um indivíduo ao alérgeno (LARCHE *et al.*, 2006).

A imunofenotipagem pode ser usada para a identificação de populações e subpopulações de leucócitos com base nos antígenos de membrana. É uma das principais aplicações da citometria de fluxo, um processo de análise multiparamétrica, mediante o qual as características físicas e/ou químicas das células são medidas enquanto circulam em uma corrente líquida, alinhadas uma a uma em frente a um laser (KEREN *et al.*, 1994). Os parâmetros medidos podem ser relacionados com características intrínsecas da célula, como tamanho e complexidade do núcleo e citoplasma, que são baseados em sinais de dispersão, ou parâmetros relacionados com propriedades antigênicas da célula, que se baseiam em sinais de fluorescência (MARTI *et al.*, 2001).

De um modo geral, os resultados dos estudos que avaliaram a inter-relação entre infecção por helmintos, reatividade ao teste alérgico cutâneo e sintomas de doenças alérgicas indicam que infecção por *Schistosoma* sp induz redução de resposta alérgica. Em estudos

transversais é possível observar que indivíduos infectados pelos helmintos *S. mansoni* e *S. haematobium* têm menor frequência de teste cutâneo positivo para aeroalérgenos. Em um estudo prospectivo, alguns autores demonstraram que a frequência de sintomas de asma, uma doença associada à atopia, é menor em pacientes infectados por *S. mansoni*, sugerindo que este helminto pode inibir a inflamação alérgica das vias respiratórias (MEDEIROS *et al.*, 2003).

É importante ressaltar que estes estudos foram realizados em regiões consideradas de alta endemicidade para a esquistossomose. Desse modo, é importante pesquisarmos se, em se tratando de uma região de baixa endemicidade, a resposta seria semelhante, para tentarmos esclarecer se a carga parasitária tem influência direta neste resultado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a resposta imuno-alérgica de pacientes diagnosticados com esquistossomose mansoni, moradores de uma área de baixa endemicidade para a doença no município de Maranguape no estado do Ceará.

2.2 Objetivos específicos

- a. Relacionar a presença da infecção pelo *Schistosoma mansoni* com a resposta a alérgenos naturais na população da comunidade do Planalto Cajueiro em Maranguape-CE;
- b. Avaliar comparativamente o perfil da resposta imunológica (concentração de IgE, eosinófilos e subpopulação linfocitárias) dos pacientes com esquistossomose mansoni na população da comunidade do Planalto Cajueiro em Maranguape-CE;
- c. Relacionar a resposta alérgica dos pacientes com esquistossomose mansoni aos fatores sócio-ambientais na população da comunidade do Planalto Cajueiro em Maranguape-CE.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo prospectivo do tipo caso-controle, realizado após os resultados dos exames para diagnóstico de esquistossomose. O período do estudo foi de maio de 2009 a agosto de 2010.

Para melhor execução, o estudo foi dividido em etapas:

- a) Divulgação do projeto junto aos residentes da comunidade através de palestra educativa sobre Esquistossomose na Escola Municipal de Ensino Fundamental Santa Rita;
- b) Visita domiciliar para assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e entrevista para coleta de dados epidemiológicos;
- c) Distribuição dos frascos para coleta de fezes, recebimento das amostras e realização dos métodos coproscópicos parasitológicos;
- d) Coleta de sangue para realização do método sorológico de ELISA;
- e) Realização de teste cutâneo e coleta de sangue para testes alérgicos;
- f) Entrega dos resultados dos exames e tratamento dos indivíduos positivos nos testes parasitológicos coproscópicos.

3.2 Área de estudo

O estudo foi realizado na comunidade Planalto Cajueiro (Figura 4), localizada no município de Maranguape, no estado do Ceará.

A sede de Maranguape se localiza há 30km da capital do estado, a cidade de Fortaleza (Figura 5), contando com uma área de 591km² e 110.523 habitantes (IBGE, 2007).



Figura 4: Localidade de estudo - Planalto Cajueiro – Maranguape – Ceará - 2010

Fonte: Arquivos do Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos (LPPBM).

A comunidade do Planalto Cajueiro, segundo dados da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), conta com uma população aproximada de 903 habitantes, os quais foram convidados a participar do estudo.

3.3 População de estudo

Concordaram em participar do diagnóstico coproscópico e sorológico de esquistossomose mansoni, 250 indivíduos. Destes, foram encontrados 40 casos de pacientes com ovos de *Schistosoma mansoni* nas fezes, pelo método de Hoffman, dos quais 39 formaram o grupo positivo e um paciente saiu do estudo por ter mudado para outro município.

Para a formação do grupo controle, foram selecionados 51 indivíduos, de forma aleatória, que fossem, ao mesmo tempo, negativos nos testes coproscópicos e negativos na sorologia para esquistossomose mansoni.

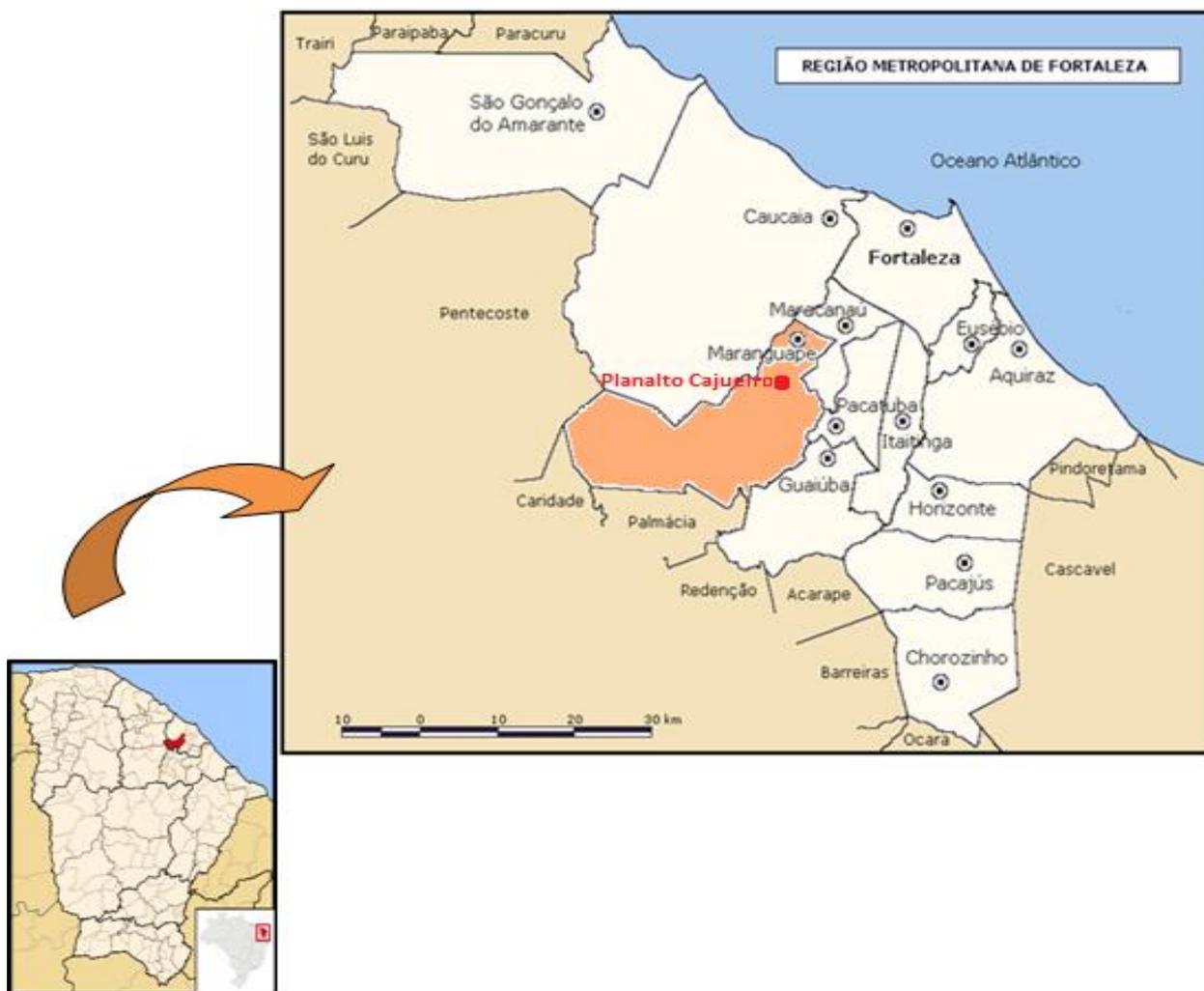


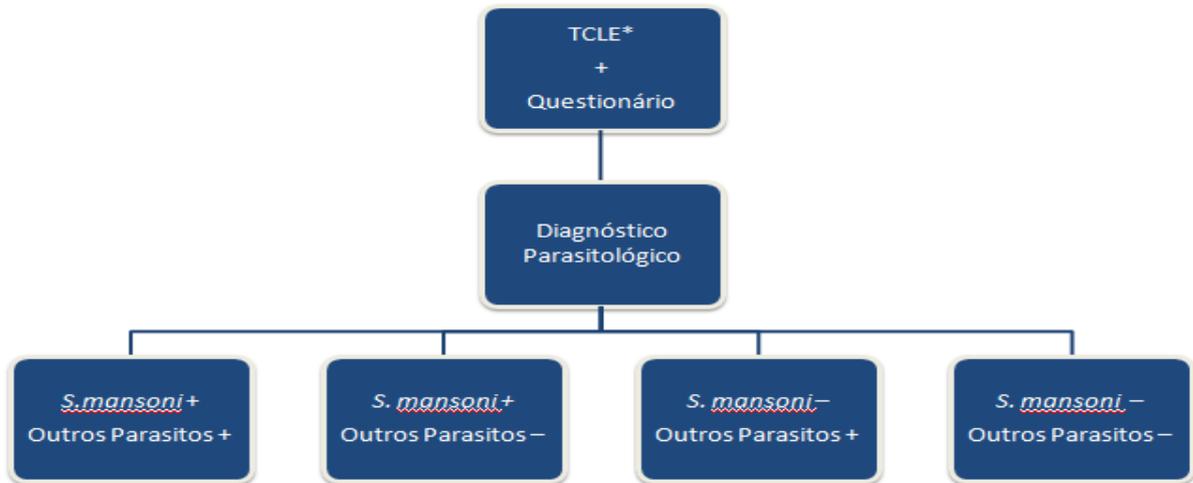
Figura 5: Localização do município de Maranguape e da área de estudo

Fonte: Adaptado de IPECE (2007).

Dentro de cada grupo (*S.mansoni* positivo e *S.mansoni* negativo – grupo controle) foi realizada uma segunda estratificação baseada no resultado do teste coproscópico de Lutz, realizado para diagnóstico de outras parasitoses. Desse modo, formaram-se quatro grupos (Figura 6):

- Grupo 1: *Schistosoma mansoni* positivo + Outros parasitos positivo;
- Grupo 2: *Schistosoma mansoni* positivo + Outros parasitos negativo;
- Grupo 3: *Schistosoma mansoni* negativo + Outros parasitos positivo;

- Grupo 4: *Schistosoma mansoni* negativo + Outros parasitos negativo.



*TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

Figura 6: Fluxograma dos métodos realizados para formação dos grupos testados.

Fonte: Próprio autor.

3.4 Critérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo segundo os seguintes critérios:

- O voluntário, ou responsável legal, que concordou em participar do estudo após receber informações sobre o estudo em uma linguagem clara que permitiu a compreensão dos participantes e assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);
- O voluntário que tinha residência fixa na localidade do Planalto Cajueiro no Município de Maranguape-CE;

3.5 Critérios de exclusão

Foram excluídos deste estudo aqueles que:

- Não tinham residência fixa na localidade do Planalto Cajueiro no Município de Maranguape-CE;
- Faziam uso de anti-alérgicos, corticóides ou imunossupressores;

- c) Tinham história de imunodepressão;
- d) Se encontravam gestantes;
- e) Tinham história de reação anafilática;
- f) Possuíam fobia a punção venosa ou testes cutâneos;
- g) Crianças menores de 2 anos de idade.

3.6 Aplicação do questionário

Primeiramente, foi explicado a todos os voluntários os objetivos da pesquisa e seus benefícios, em uma linguagem adequada a cultura local, explicando quais eram os riscos e benefícios da participação no trabalho. Os voluntários que concordaram em participar, ou os seus representantes legais, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

Após o consentimento, os voluntários foram submetidos a um questionário (Apêndice B), contendo perguntas a respeito das condições sócio-ambientais, de saúde do indivíduo e sobre algumas manifestações da esquistossomose.

3.7 Coleta do material

3.7.1 Coleta parasitológica

Foram distribuídos na casa de cada morador que concordou em participar desse estudo, frascos de coleta (coletor universal) com tampa e espátula, rotulados e identificados. Decorridas 24 horas, os frascos foram recolhidos e levados ao posto de saúde da localidade, onde foram confeccionadas 03 lâminas de Kato-Katz de amostra de cada paciente.

Para a coleta do material parasitológico e preparação das lâminas, contamos com a participação de Técnicos da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA).

Após a detecção dos pacientes positivos para Esquistossomose *mansoni*, foi colhida uma nova amostra de fezes, pelo mesmo procedimento, para a realização do exame parasitológico de fezes através da técnica de Hoffman, para a possível identificação de outros parasitas.

3.7.2 Coleta sanguínea

A coleta foi realizada no posto de saúde da localidade com o auxílio de técnicas do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Municipal de Maranguape.

Foram colhidos 8 mL de sangue, por punção venosa, utilizando material à vácuo devidamente identificado, estéril e descartável. O sangue foi colhido em dois tubos diferentes: um tubo contendo EDTA como anticoagulante, para obtenção de sangue total, e um tubo sem adição de anticoagulante para posterior obtenção do soro.

O tubo colhido com EDTA foi refrigerado e levado ao Laboratório de Hemoglobinopatias e Doenças Hematológicas Genéticas (LHDHG) da UFC, para a realização do Hemograma, e posteriormente para o Centro de Referência de Diagnóstico do Câncer da Criança e do Adolescente Dr. Murilo Martins, para a realização da imunofenotipagem para a contagem de subpopulações linfocitárias.

O tubo sem anticoagulante foi centrifugado a 1500rpm por 5' e o sobrenadante separado, aliquotado, identificado e transportado sob refrigeração ao Laboratório de Pesquisa em Parasitologia e Biologia de Moluscos (LPPBM), onde as alíquotas foram armazenadas em um freezer à -70°C, para posteriores dosagens da Imunoglobulina E (IgE).

3.8 Métodos diagnósticos

Primeiramente foi realizado um exame parasitológico pelo método de Kato-Katz para a detecção de ovos de *S.mansoni* nos pacientes. Em todos os pacientes, tanto aqueles que tiveram resultados positivos quanto os que obtiveram resultados negativos pelo teste de Kato-Katz, realizamos a pesquisa de anticorpos IgG anti- *Schistosoma mansoni* (SWAP).

O grupo controle foi composto por pacientes com Kato-Katz e sorologia para *Schistosoma mansoni* negativos.

Formados os grupos, em todos os pacientes foram realizados: exame parasitológico de fezes pelo método de Hoffman, Prick test, hemograma, dosagem das subpopulações linfocitária e dosagem de IgE (Figura 7).

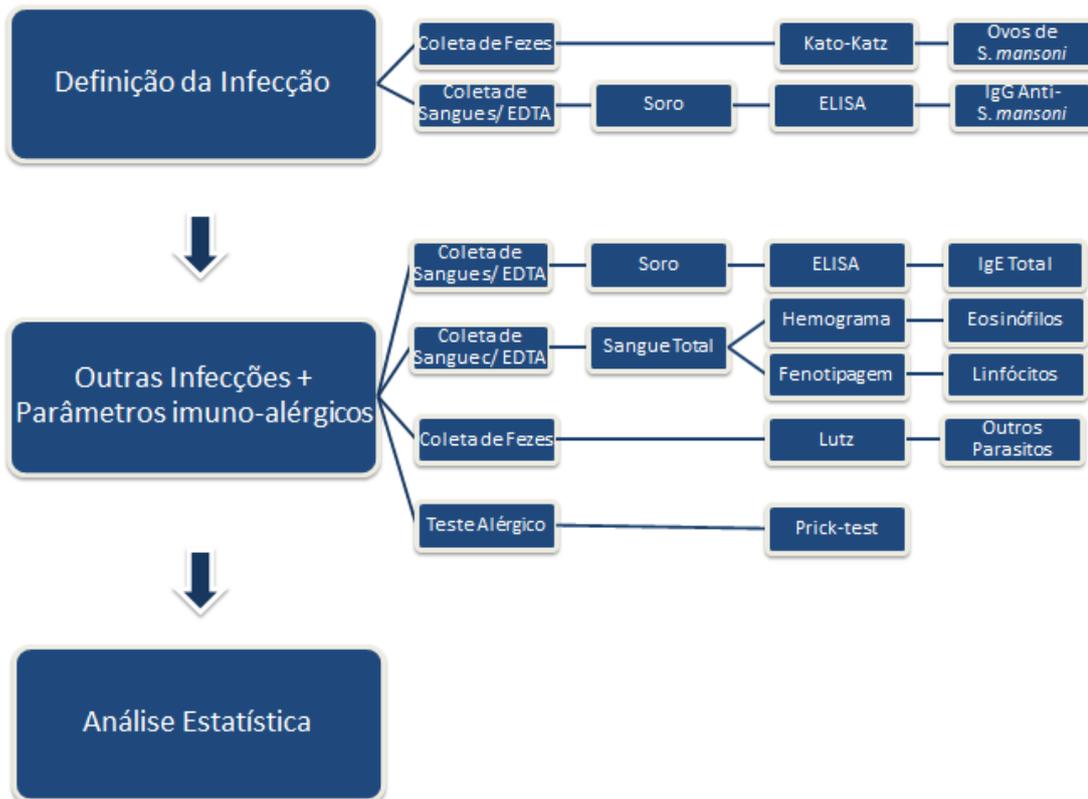


Figura 7: Fluxograma das etapas desenvolvidas no presente estudo.

Fonte: Próprio autor.

3.8.1 Método de Kato-Katz

Este método foi realizado utilizando-se o kit Helm-Test[®] (Figura 8). Foi colocada sobre as fezes a tela, pertencente ao kit, pressionando-a com o auxílio de uma espátula. Com a espátula, foi colhida uma pequena quantidade (40 a 50mg) das fezes que passaram pela tela, depositando no orifício do cartão, que estava sobre uma lâmina. Após preencher completamente o orifício, o cartão foi retirado, deixando as fezes sobre a lâmina de vidro. As fezes foram cobertas com uma lamínula de celofane, previamente embebida em solução de

verde-malaquita. A lâmina foi invertida e apoiada em papel higiênico, pressionando-a contra o papel para a formação de uma camada delgada entre lâmina e lamínula. Após 60 minutos, o material foi examinado ao microscópio, percorrendo toda a superfície delimitada pela lamínula, fazendo a contagem do número de ovos de *S. mansoni*. O número de ovos encontrados foi multiplicado pelo fator de conversão (24), correspondendo, desse modo, ao número de ovos por grama de fezes (a quantidade de fezes contida no volume que passa pelo orifício é de aproximadamente 41,7 mg, que multiplicado por 24 resulta em 1,0 g).

Foram preparadas três lâminas de cada amostra, através da técnica descrita acima, para pesquisa dos ovos de *S. mansoni* e de outros helmintos, a fim de aumentar a sensibilidade do teste.



Figura 8: Kit Helm test®

Fonte: Arquivos Fiocruz

3.8.2 Dosagem de anticorpos IgG anti-Schistosoma por Elisa (Colley *et al.*,1977, com modificações)

Foram utilizadas placas de 96 poços com capacidade para 300 μ L, fundo chato maxisorp (NUNC®), sendo sensibilizadas pela adição, a cada poço, de 100 μ L do antígeno total de verme adulto de *S. mansoni* (que nos foi fornecido pelo Prof. Dr. Alfredo Goes, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais), na concentração de 5 μ g/mL de proteínas diluídas em tampão carbonato (pH 9,6). Foi escolhido este tipo de antígeno por proporcionar em reações sorológicas um aumento da sensibilidade das mesmas.

As placas (Figura 9) foram seladas e incubadas durante a noite a 4°C. No dia seguinte, as placas foram lavadas três vezes com solução de lavagem Salina-Tween 0,05M. Foram adicionados a cada poço 100µL de soro de cada amostra, em duplicata, diluídos a 1:200 em solução diluente (PBS, contendo NaCl 0,5M e 0,2% de Tween 20). As placas foram seladas e incubadas por 1 hora e 30 minutos em estufa a 37°C. Após esse período, as placas foram novamente lavadas três vezes. Foram adicionados 100µL de Anti-IgG conjugada com peroxidase (Sigma-Aldrich) por poço, diluído a 1:1.500 em solução diluente. As placas foram seladas e incubadas novamente por mais uma hora e meia em estufa a 37°C. Após esse período, as placas foram lavadas três vezes. Foi adicionado por poço 100µL de ortophenylenediamina - OPD (Sigma-Aldrich) diluído em tampão citrato (pH 5,0) e 0,03% de peróxido de hidrogênio. As placas foram então tampadas e protegidas da luz por 20 minutos, à temperatura ambiente e depois a reação foi interrompida com a adição de 20µL / poço de ácido sulfúrico 2N.

A densidade ótica foi medida em leitor automático de ELISA (BioTeck®), utilizando um filtro de 490nm.

Foram consideradas positivas as reações com densidade óptica (DO) acima de 0,283, que foi o valor do “cut off” determinado utilizando-se a média mais dois desvios padrões da leitura em DO, obtida de 35 soros de um grupo controle, formado por indivíduos não provenientes de região endêmica para a esquistossomose, com testes negativos para *Schistosoma mansoni*.

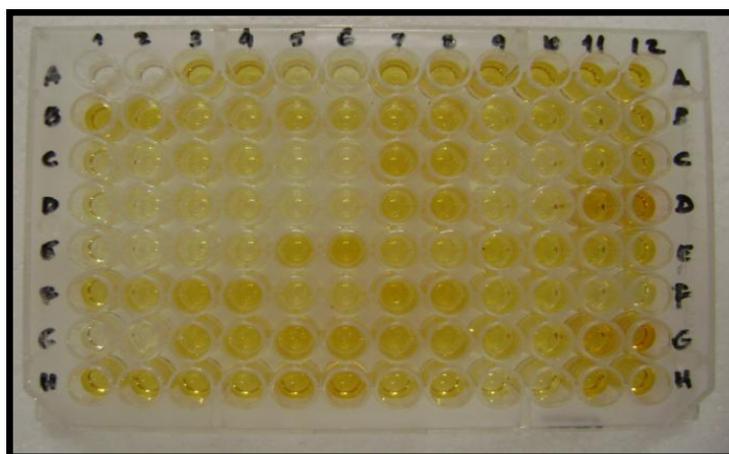


Figura 9: Placa de experimento do ELISA.

Fonte: Arquivos do LPPBM.

3.8.3 Exame parasitológico de fezes (segundo Lutz)

Baseia-se na sedimentação espontânea dos parasitos e suas diversas formas (cistos, larvas e ovos) quando presentes nas fezes. Foram tomadas 2 a 4 gramas de fezes frescas, colhidas de várias partes do bolo fecal, colocadas em um frasco de Borrel e desmanchadas em 5 ml água destilada com o auxílio de um bastão de vidro ou de plástico. A emulsão foi coada através de um filtro descartável para dentro de um cálice cônico de 200 ml. O volume do cálice foi completado acrescentando mais água e deixado sedimentar por duas horas. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi retirada uma pequena amostra de sedimento, colocado sobre uma lâmina de microscopia e coberto com lamínula. Para melhor visualização de cistos de protozoários foi adicionado corante Lugol a uma nova amostra com lamínula.

3.8.4 Prick test (Teste de Puntura)

Após seleção dos grupos de estudo, foi realizado o primeiro teste diagnóstico. Os pacientes selecionados foram submetidos ao teste cutâneo Prick test para a avaliação da resposta imunológica aos principais alérgenos ambientais. Os alérgenos testados foram: *Dermatophagoides pteronissimus*, *Dermatophagoides farinae*, *Blomia tropicalis*, Baratas (MIX) e Fungos (MIX), sendo os três primeiros diferentes tipos de ácaros. Este exame foi realizado na presença de um médico.

Para a realização do teste cutâneo, primeiramente foi realizada a assepsia da fance anterior do braço com álcool 70%. Em seguida, com o auxílio de uma caneta demográfica, a epiderme foi marcada com pequenos pontos ou traços nos locais da aplicação dos testes, mantendo um raio de 2 cm entre cada marca. Foi identificada cada marca com a sigla referente ao alérgeno a ser testado. Próximo a cada marca, foi depositada uma gota (25µl) de cada extrato alergênico. Com o auxílio de um puntor padronizado foi feita uma pequena escoriação na pele. Esta aplicação pode resultar, após alguns minutos, no desenvolvimento de uma reação parecida com uma picada de pulga ou mosquito, ou seja, no local da aplicação desenvolvem-se eritema e pápula. Se isto ocorrer significa que o paciente deve ser alérgico ao alérgeno aplicado no local. Como controle positivo para este teste foi usada uma solução de histamina e como controle negativo soro fisiológico.

A leitura foi realizada em 20 minutos após o início do teste.



Figura 10: Reação do Prick test.

Fonte: Próprio autor.

3.8.5 Hemograma

O equipamento utilizado foi o Sysmex KX-21N. Este equipamento trabalha com um sistema automatizado que faz as análises por absorção espectrofométrica e impedância. Após a análise, o equipamento forneceu o resultado a contagem dos eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e CHCM. Com o sangue previamente homogeneizado foi pressionada a tecla [Sample nº] no painel do KX-21N e introduzida a identificação do tubo e confirmado com a tecla [Enter]. O tubo foi colocado na pipeta de aspiração, pressionando a respectiva tecla. Após processamento da amostra pelo aparelho, os resultados da contagem foram impressos. Terminada a leitura automática, foi preparado um esfregaço da mesma amostra; corado pelo Panótipo Rápido e realizada a contagem diferencial das células ao microscópio.

3.8.6 Determinação das sub-populações linfocitárias – CD3, CD4, CD8, CD19, CD56 (citometria de fluxo)

Em um tubo de ensaio, foram colocados 100 µl de sangue total homogeneizado e depois adicionados 25 uL do reagente Lymphogram®, que contém os seguintes anticorpos marcados com seus respectivos fluorocromos para detecção das sub-populações:

- Anticorpo monoclonal anti-CD8 conjugado com isotiocianato (FITC), clone: UCH-T4, isotipo: IgG2a;
- Anticorpo monoclonal anti-CD19 conjugado com isotiocianato (FITC), clone: SJ25C1, isotipo: IgG1;
- Anticorpo monoclonal anti-CD3 conjugado com R-ficoeritrina (PE), clone: 33-2-A3, isotipo: IgG2b;
- Anticorpo monoclonal anti-CD56 conjugado com R-ficoeritrina (PE), clone: C5.9, isotipo: IgG2b;
- Anticorpo monoclonal anti-CD4 conjugado com R-ficoeritrina cianina 5, clone: 13B8.2, isotipo: IgG1.

O material foi incubado por 15 minutos em câmara escura. Após esse tempo, foram adicionados 100 µl de Reagente de Lise e agitado imediatamente em “vórtex” durante 5-10 segundos. O material foi lavado com solução isotônica (Isoton II) por centrifugação por duas vezes. Ao final, foram acrescentados 500 µl desta última solução e foi feita a aquisição no citômetro (Figura 11), identificando a região dos linfócitos, usando como parâmetros o tamanho e a granulosidade. Foi avaliada a presença de diferentes subpopulações linfocitárias de acordo com os diferentes anticorpos utilizados (CD3, CD4, CD19, CD8 e CD56), identificando dessa forma Linfócitos B, Linfócitos T, *LHelper*, LT citotóxicos e Células *Natural Killer* (NK).

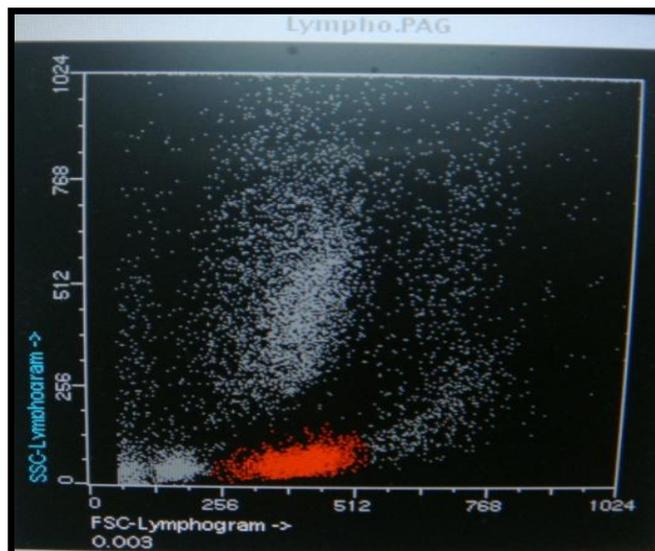


Figura 11: Aquisição de células por citometria de fluxo, com linfócitos evidenciados em vermelho.

Fonte: Próprio autor.

3.8.7 Dosagem de IgE por ELISA em soro

Para a dosagem da IgE total dos pacientes, foi utilizado o Kit comercial Monobind IgE AccuLite™ CLIA e seguido o procedimento do fabricante.

Utilizando-se placas com 96 poços, foram pipetados 25 µl do controle ou amostras nas microcavidades pré-estabelecidas. Foram adicionados 100 µl do Reagente IgE a cada microcavidade e incubado por 30 minutos à temperatura ambiente. Após esse período as placas foram lavadas três vezes com tampão de lavagem fornecido pelo fabricante. Em seguida foram adicionados 100 µl de Anticorpos Anti-IgE-HRP a cada microcavidade e incubado por 30 minutos à temperatura ambiente. Após esse tempo, a placa foi lavada três vezes. Foram adicionados 100 µl de solução trabalho de substrato, tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio H₂O₂, preparado anteriormente segundo instruções do fabricante, para todas as microcavidades e incubados à temperatura ambiente por 15 minutos. A reação foi interrompida adicionando-se 0,050 ml (50 µl) de solução de parada (HCL 1N) para cada microcavidade e depois lida em leitor de ELISA nos comprimentos de onda de 450nm e 620nm.

3.9 Tratamento

Após a realização dos exames, todos os pacientes que apresentaram resultados positivos, para helmintos intestinais e/ou esquistossomose foram tratados com Albendazol® (400 mg /Dose única) e Praziquantel® 40 mg / kg / Dose única) respectivamente. Esses medicamentos foram disponibilizados pela Secretaria de Saúde do Município de Maranguape, a prescrição e administração foram supervisionadas pelo médico do Posto de Saúde Municipal.

3.10 Aspectos éticos

Todas as pessoas foram informadas sobre seus direitos que são assegurados pela Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e receberam os devidos esclarecimentos da pesquisa, do caráter participativo, e a garantia de que não houve/haverá divulgação de nomes ou de qualquer outra informação que ponha em risco a sua privacidade.

Obedecendo às normas éticas que regem a pesquisa em saúde e em seres humanos, foi apresentado antes o objetivo da pesquisa e após o esclarecimento e o consentimento por parte do entrevistado, o questionário foi respondido. O participante teve/tem autonomia e liberdade para desistir a qualquer momento de participar da pesquisa, ressaltando que não haverá desconfortos e nenhum tipo de risco para o mesmo.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Medicina sob o número 329/09 em 04/03/2010

3.11 Análise estatística

Um banco de dados foi elaborado com o auxílio do Programa Microsoft Office Excel 2007 para organização e armazenamento dos dados pessoais, clínicos e laboratoriais. Os resultados dos diferentes métodos foram analisados utilizando-se o Programa GraphPad Prisma.

4 RESULTADOS

Para o diagnóstico da esquistossomose, neste estudo utilizamos o teste recomendado pelo Ministério da Saúde para diagnóstico parasitológico desta doença. Desse modo foi feita a detecção do ovo de *Schistosoma mansoni* através do método de Kato-Katz. Paralelamente, foi realizada uma pesquisa para anticorpos do tipo IgG anti-*S. mansoni* contra antígenos do verme adulto, através da técnica de ELISA em amostras de soro e pesquisa de outros parasitos nas fezes através do método de Lutz. Os dados obtidos foram utilizados para formação dos grupos de indivíduos incluídos neste estudo.

4.1 Caracterização da população

Dos 91 indivíduos analisados, verificamos que 45 eram do sexo feminino e 46 do sexo masculino. Desses, quanto à faixa etária, 17 (18,7%) possuíam de 15 a 25 anos, 27 (29,7%) de 26 a 46 anos e 15 (14,5%) com 47 anos ou mais. Os demais grupos incluíam idades variadas, conforme figura abaixo. A divisão das faixas etárias seguiu o padrão utilizado pelo Programa de Controle da Esquistossomose do Ministério da Saúde.

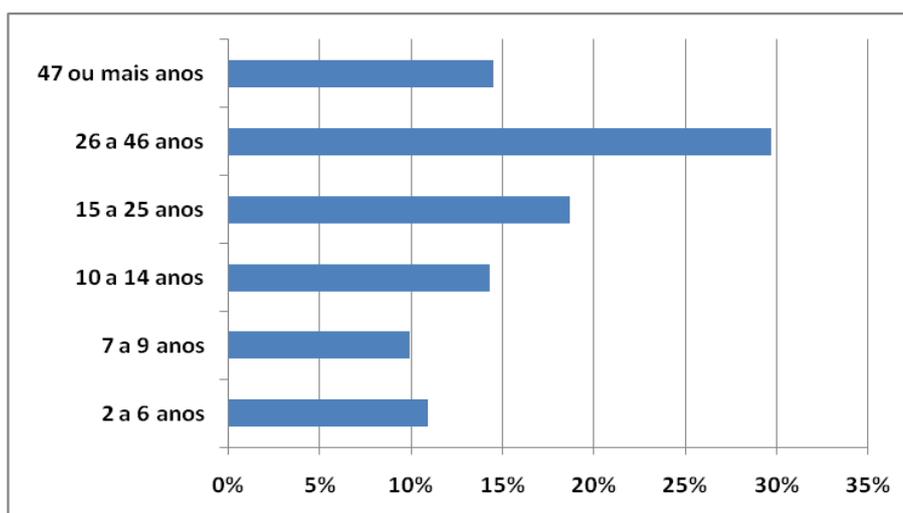


Figura 12: Faixa etária dos indivíduos participantes do estudo e residentes do Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Dos 39 indivíduos do grupo positivo, 16 (41,0%) eram do sexo feminino e 23 (59,0%) do sexo masculino. Quanto a faixa etária, 01 (2,6%) indivíduo estava na faixa etária de 2 a 6 anos, 06 (15,4%) indivíduos na de 7 a 9 anos, 10 (25,6%) indivíduos na de 10 a 14 anos, 12 (30,8%) indivíduos na de 15 a 25 anos, 09 (23,0%) indivíduos na de 26 a 46 anos, e 01 (2,6%) indivíduo, com mais de 47 anos.

Dos 52 indivíduos do grupo negativo, ou grupo controle, 29 (55,8%) eram do sexo feminino e 23 (44,2%) eram do sexo masculino. Quanto a faixa etária, 09 indivíduos estavam na faixa entre 2 a 6 anos, 03 indivíduos na de 7 a 9 anos, 03 indivíduos na de 10 a 14 anos, 05 indivíduos na de 15 a 25 anos, 18 indivíduos na de 26 a 46 anos e 14 indivíduos com 47 anos ou mais.

4.2 Diagnóstico da Esquistossomose mansoni e de outras parasitoses

4.2.1 Método de Kato-Katz

Para o método de Kato-katz foram confeccionadas e lidas três lâminas de cada amostra de fezes. Dos 250 indivíduos que entregaram a amostra fecal, foram encontradas 40 amostras positivas para *S. mansoni* (16%).

4.2.2 Método de Elisa

Dos 250 indivíduos que colheram amostra sanguínea e foram analisados pelo método de ELISA, para detecção de anticorpos do tipo IgG para antígenos de verme adulto de *S. mansoni*, 118 (47,2%) foram reativos e 132 (53,8%) não reativos. O valor do “Cut-off” (limite de positividade) determinado foi de 0,283 (Figura 13).

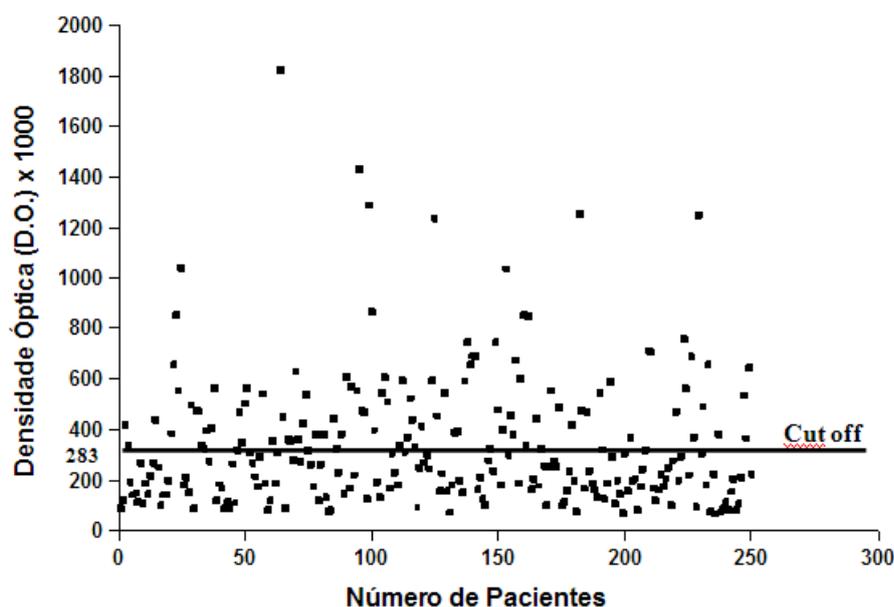


Figura 13: Densidade Óptica (DO) das amostras dosadas para IgG anti-*S. mansoni* através da técnica de ELISA

4.2.3 Nova formação dos grupos

A partir da detecção do ovo de *S. mansoni* através do método de Kato-katz, os 40 indivíduos que foram positivos neste teste, foram selecionados para formar o grupo de estudo, ou grupo positivo. Apenas um indivíduo foi excluído do estudo, devido ao fato de ter se mudado da localidade. Dessa forma, 39 indivíduos formaram o grupo *Schistosoma mansoni* + . Para formação do grupo negativo, ou grupo controle, foram selecionados aleatoriamente 52 indivíduos que tiveram resultados negativos nos testes do Kato-katz e ELISA. Totalizou-se, dessa forma, uma população de 91 indivíduos.

4.2.4 Método de Lutz

Nos 91 pacientes participantes da pesquisa, foi realizada uma busca por outros parasitos nas fezes, utilizando-se o método de Lutz. Desses, 18 indivíduos foram encontrados um ou mais parasitos. Dos 39 indivíduos positivos para *S. mansoni*, em 14 foram encontrados

outros tipos de parasito. Dos 52 indivíduos do grupo negativo, em apenas 04 foram encontrados outros parasitos intestinais (Figura 14).

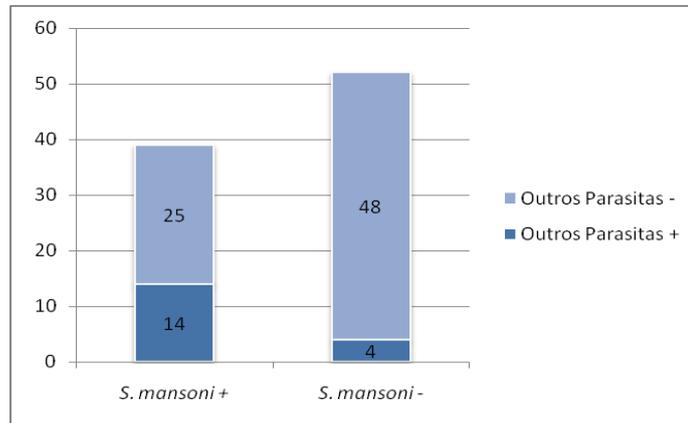


Figura 14: Resultado da pesquisa por outros parasitos através do método de Lutz nos grupos estudados

Foram detectados 06 indivíduos com *Ascaris lumbricoides*, 03 com *Ancylostomo duodenalis*, 02 com *Entamoeba coli*, 02 com *Giardia lamblia*, 03 com *Enterobius vermicularis*, 03 com *Entamoeba hystolytica*, 04 com *Trichuris trichiura*, 01 com larva de *Strongyloides* (Figura 15).

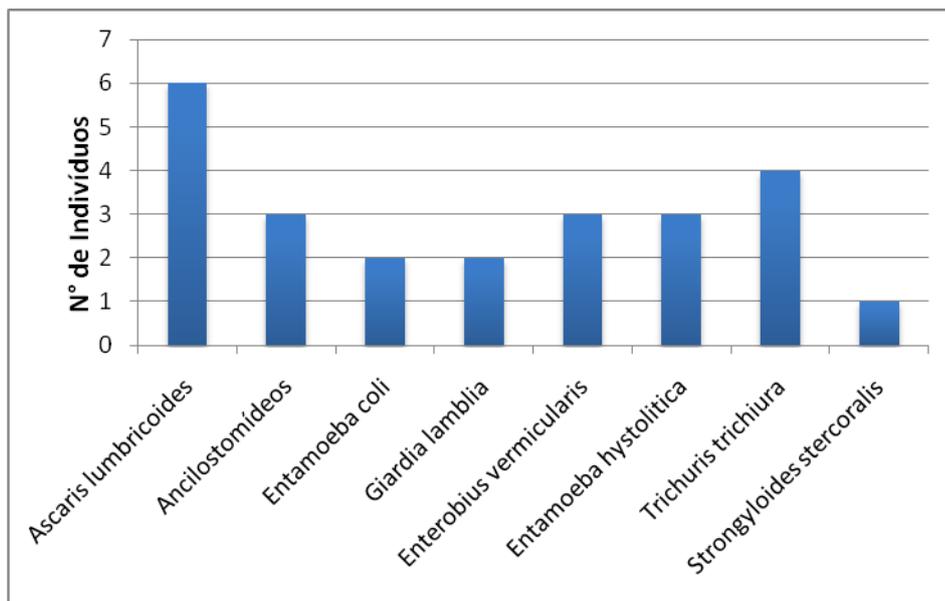


Figura 15: Número de parasitos encontrados pelo método de Hoffman, nos indivíduos do estudo

4.3 Resposta a alérgenos ambientais

4.3.1 Prick test

Nos 91 indivíduos participantes do estudo, foi avaliada a resposta à alérgenos ambientais através do Prick test. O indivíduo que reagisse a um determinado antígeno foi considerado alérgico ao mesmo. Apenas 07 (17,9%) indivíduos do grupo positivo reagiram a um ou mais dos alérgenos testados; enquanto 20 (38,5%) dos indivíduos do grupo negativo foram reagentes (Figura 16).

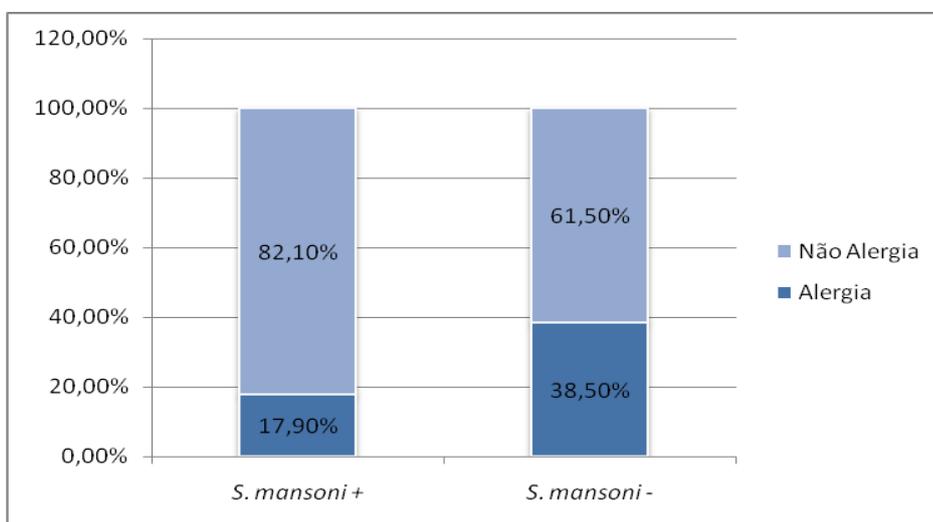


Figura 16: Número de indivíduos alérgicos segundo os grupos do estudo

A partir dos resultados do Prick test, em cada grupo, positivo e negativo, foi realizada uma nova divisão entre alérgicos e não alérgicos. Dessa forma, formaram-se quatro grupos:

- *Schistosoma mansoni* + Alergia + (Sm(+))PT(+)): 7 indivíduos;
- *Schistosoma mansoni* + Alergia – (Sm(+))PT(-)): 32 indivíduos;
- *Schistosoma mansoni* – Alergia + (Sm(-))PT(+)): 20 indivíduos;
- *Schistosoma mansoni* – Alergia – (Sm(-))PT(-)): 32 indivíduos.

4.4 Resposta imunológica

4.4.1 Dosagem de IgE

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores de IgE foram: 435,8UI/ml para Sm(+)PT(+); 363,6UI/ml para Sm(+)PT(-); 388,2UI/ml para Sm(-)PT(+); e 226,4UI/ml para Sm(-)PT(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatro grupos foi significativa ($P < 0,0001$). Quando cruzamos os dados em pares, encontramos, segundo o teste Tukey, diferenças significativas ($P < 0,05$) entre Sm(+)PT(+) e Sm(-)PT(-); entre ($P < 0,01$) Sm(+)PT(-) e Sm(-)PT(-); e entre ($P < 0,01$) Sm(-)PT(+) e Sm(-)PT(-). (Figura 17).

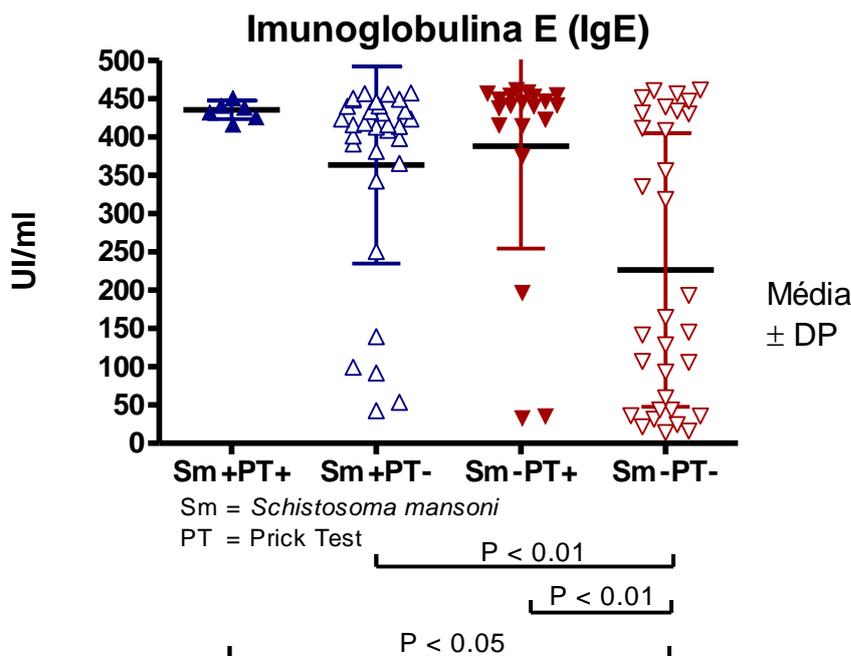


Figura 17: Média de valores da IgE dos quatro grupos estudados

4.4.2 Contagem de eosinófilos

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem de eosinófilos foram: 23540 células/ml para Sm(+)PT(+); 21075 células/ml para Sm(+)PT(-); 519 células/ml para Sm(-)PT(+); e 244 células/ml para Sm(-)PT(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatro grupos foi significativa ($P < 0,0001$). Quando cruzamos os dados em

pares, encontramos, segundo o teste Tukey, diferenças significativas entre ($P < 0,001$) Sm(+) $PT(+)$ e Sm(-) $PT(+)$; entre ($P < 0,001$) Sm(+) $PT(+)$ e Sm(-) $PT(-)$; entre ($P < 0,001$) Sm(+) $PT(-)$ e Sm(-) $PT(+)$; e entre ($P < 0,001$) Sm(+) $PT(-)$ e Sm(-) $PT(-)$. (Figura 18).

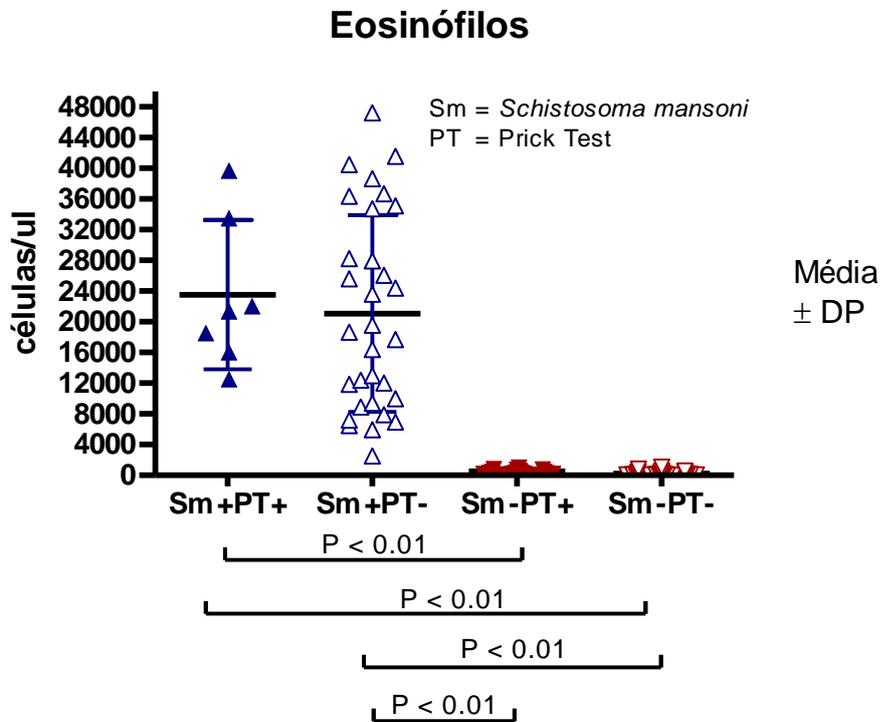


Figura 18: Média de valores da contagem de eosinófilos dos quatro grupos estudados

4.4.3 Contagem das sub-populações linfocitárias

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem de linfócitos foram: 6986 células/ml para Sm(+)**PT**(+); 8003 células/ml para Sm(+)**PT**(-); 7295 células/ml para Sm(-)**PT**(+); e 6453 células/ml para Sm(-)**PT**(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatro grupos foi significativa ($P < 0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, encontramos, segundo o teste Tukey, diferenças significativas apenas entre ($P < 0,05$) Sm(+)**PT**(-) e Sm(-)**PT**(-). (Figura 19)

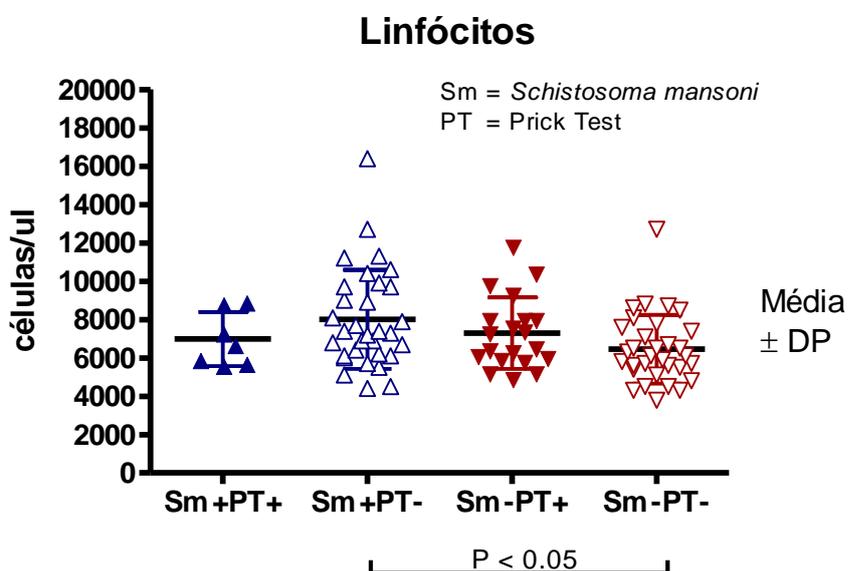


Figura 19: Média de valores da contagem de linfócitos dos quatro grupos estudados

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem das células CD19 foram : 140 células/ml para Sm(+)**PT**(+); 156 células/ml para Sm(+)**PT**(-); 167 células/ml para Sm(-)**PT**(+); e 145 células/ml para Sm(-)**PT**(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatro grupos não foi significativa ($P > 0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, também não encontramos significância. (Figura 20)

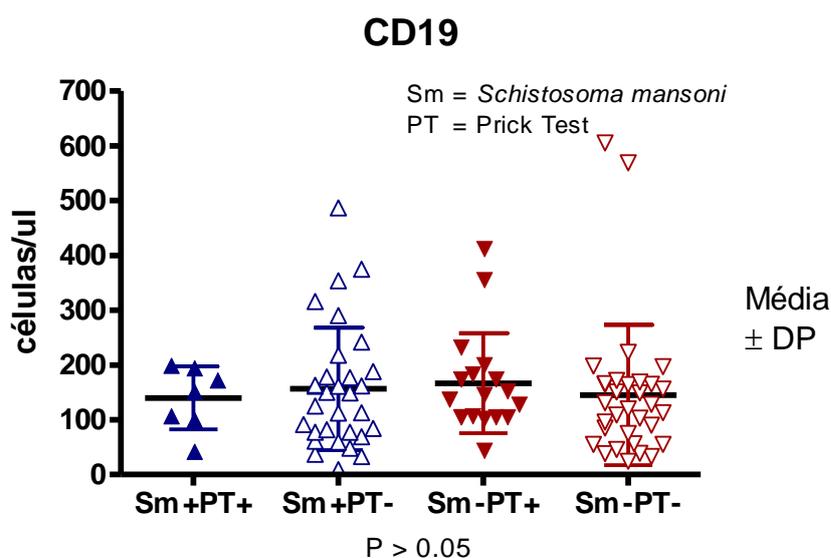


Figura 20: Média de valores da contagem de células CD19 dos quatro grupos estudados

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem das células CD56 foram : 429 células/ml para Sm(+)*PT*(+); 451 células/ml para Sm(+)*PT*(-); 366 células/ml para Sm(-)*PT*(+); e 400 células/ml para Sm(-)*PT*(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatros grupos não foi significativa ($P > 0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, também não encontramos significância. (Figura 21)

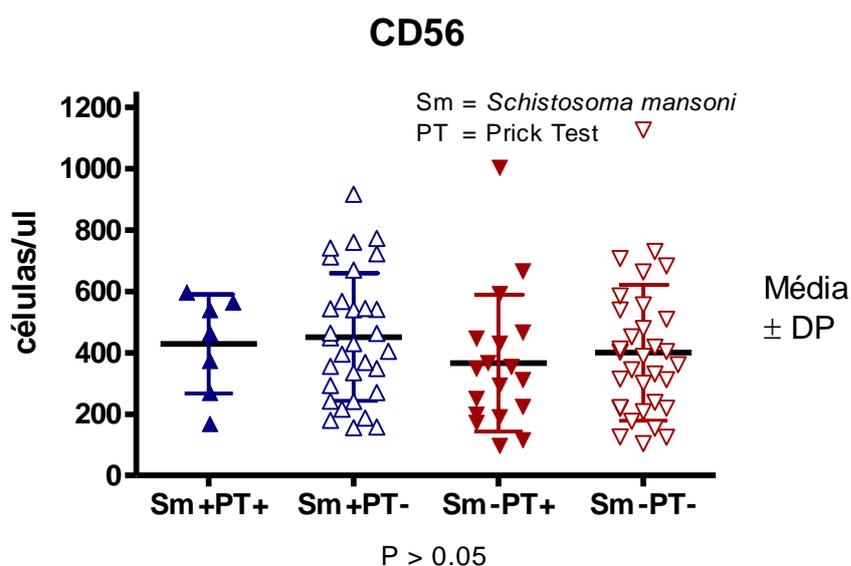


Figura 21: Média de valores da contagem de células CD56 dos quatro grupos estudados

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem das células CD3+CD4+ foram : 875 células/ml para Sm(+)PT(+); 970 células/ml para Sm(+)PT(-); 756 células/ml para Sm(-)PT(+); e 726 células/ml para Sm(-)PT(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatros grupos foi significativa ($P < 0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, encontramos diferença significativa entre ($P < 0,05$) Sm(+)PT(-) e Sm(-)PT(-). (Figura 22).

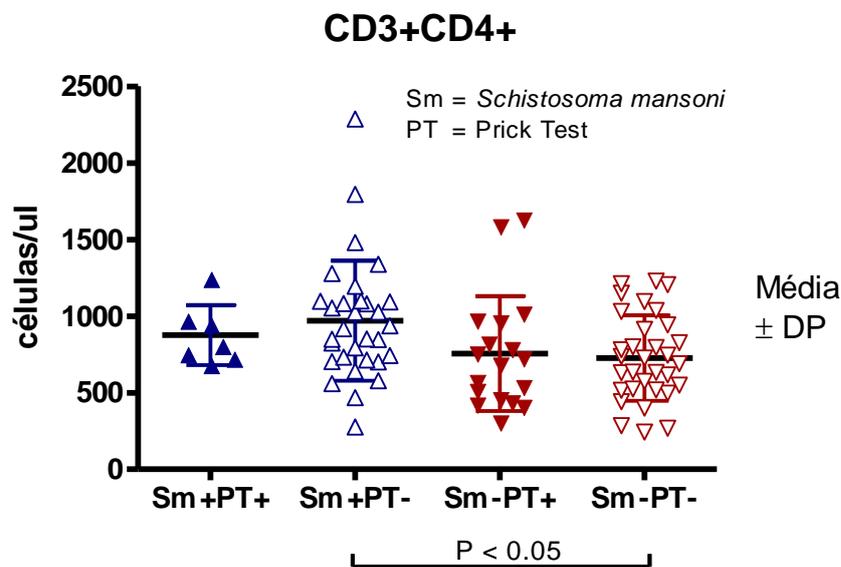


Figura 22: Média de valores da contagem de células CD3+CD4+ dos quatro grupos estudados

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem das células CD3+CD8+ foram: 485 células/ml para Sm(+)PT(+); 590 células/ml para Sm(+)PT(-); 479 células/ml para Sm(-)PT(+); e 418 células/ml para Sm(-)PT(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatros grupos foi significativa ($P < 0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, também encontramos diferença significativa entre ($P < 0,05$) Sm(+)PT(-) e Sm(-)PT(-). (Figura 23).

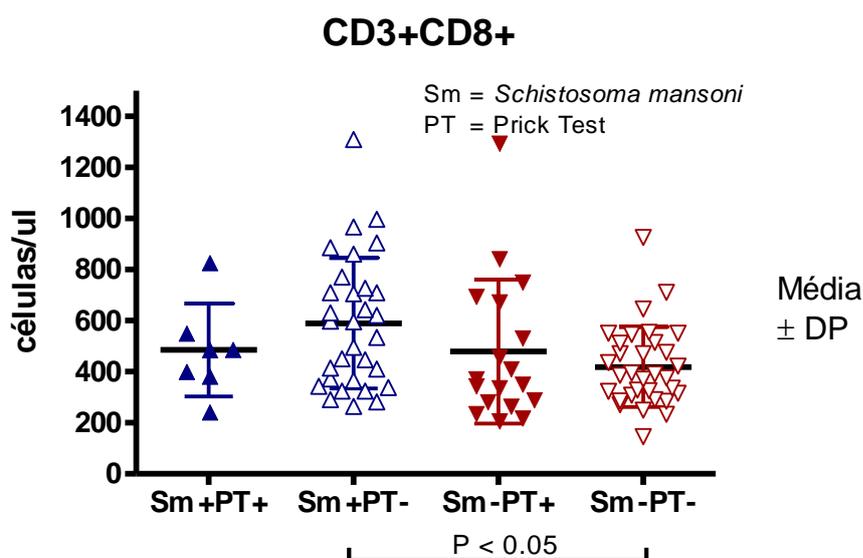


Figura 23: Média de valores da contagem de células CD3+CD8+ dos quatro grupos estudados

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem das células CD3+CD4+CD8+ foram : 6 células/ml para Sm(+)PT(+); 7 células/ml para Sm(+)PT(-); 8 células/ml para Sm(-)PT(+); e 10 células/ml para Sm(-)PT(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatros grupos não foi significativa ($P > 0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, também não encontramos significância. (Figura 24)

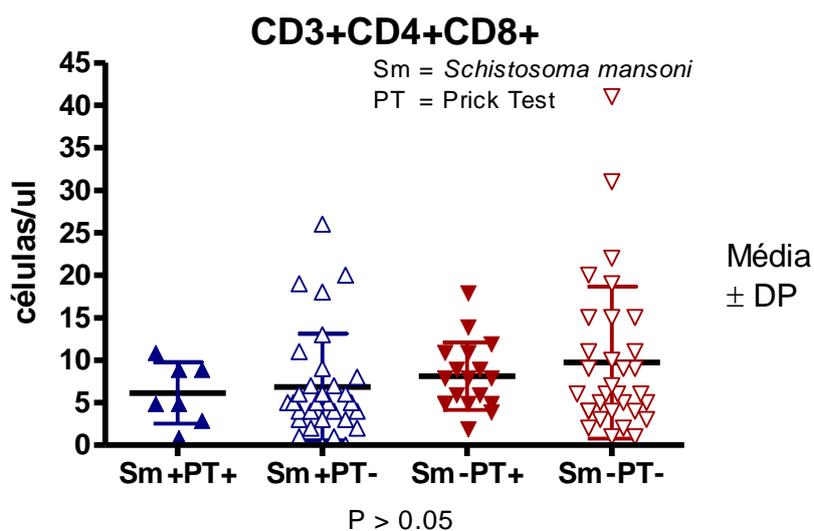


Figura 24: Média de valores da contagem de células CD3+CD4+CD8+ dos quatro grupos estudados

Nos quatro grupos estudados, as médias de valores da contagem das células CD3+ foram : 138 células/ml para Sm(+)PT(+); 130 células/ml para Sm(+)PT(-); 178 células/ml para Sm(-)PT(+); e 130 células/ml para Sm(-)PT(-). De acordo com teste ANOVA, a diferença entre os quatros grupos não foi significativa ($P>0,05$). Quando cruzamos os dados em pares, também não encontramos significância. (Figura 25)

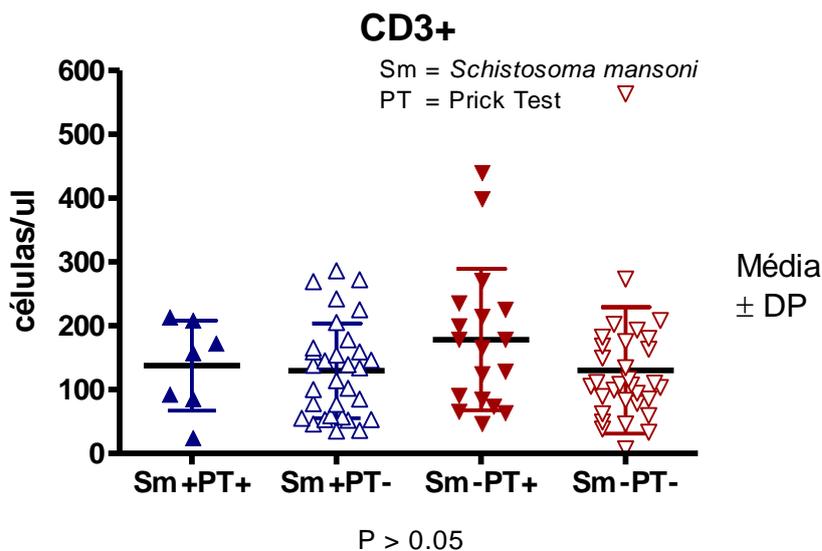


Figura 25: Média de valores da contagem de células somente CD3+ dos quatro grupos estudados

4.5 Alergia x fatores sócio ambientais

Buscamos correlacionar presença/ausência de alergia, determinada por reatividade ao Prick test, a alguns dos fatores sócio-ambientais avaliados no questionário (Apêndice B). Utilizamos para essa análise os dados dos 27 indivíduos reativos no Prick test.

Ao realizarmos o cruzamento entre as faixas etárias e presença de alergia, observamos que 04 (14,8%) reativos tinham de 2 a 6 anos; 03 (11,1%) de 7 a 9 anos; 04 (14,8%) de 10 a 14 anos; 07 (25,9%) de 15 a 25 anos , 06 (22,2%) de 26 a 46 anos e 03 (11,1%) tinham idade igual ou superior a 47 anos (Figura 26).

Avaliando estatisticamente os dados idade x alergia podemos concluir que a idade influenciou o teste cutâneo para alergia, observando-se uma relação inversa, quanto menor a idade, mais chances o indivíduo tem de ser alérgico ($P=0,008$).

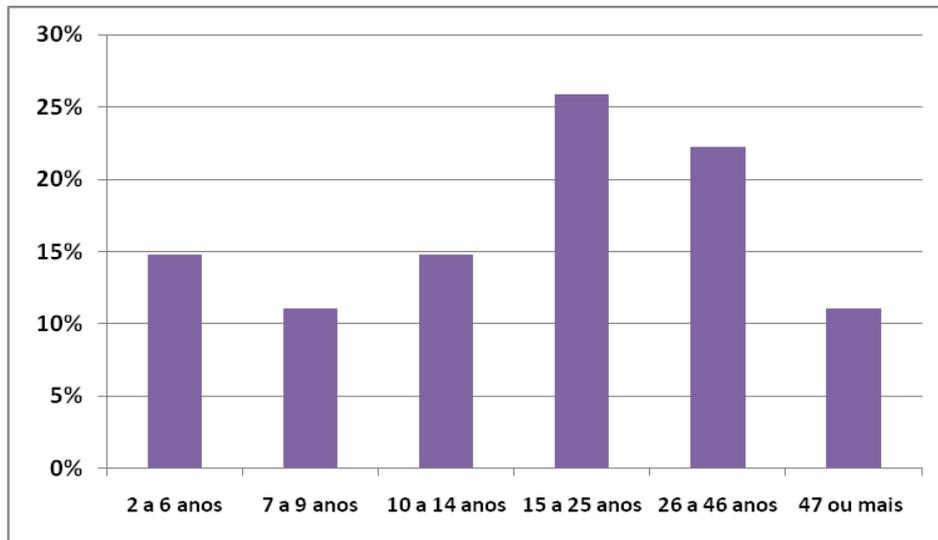


Figura 26: Porcentagem dos participantes de acordo com faixa etária - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Quanto à escolaridade, 16 (17,6%) indivíduos possuíam ensino médio completo, 01(1,1%) ensino médio incompleto, 06 (6,6%) ensino fundamental completo, 55 (60,4%) ensino fundamental incompleto e 13 indivíduos não tinham estudo. A faixa etária maior de 2 a 6 anos foi incluída na população sem estudo.

Ao realizarmos o cruzamento entre escolaridade e alergia, observamos 08 (29,6%) indivíduos positivos possuíam o ensino médio completo, 01 (3,7%), ensino fundamental completo, enquanto 13 (48,1%) possuíam o ensino fundamental incompleto e 05 (18,5%) não tinham estudo (Figura 27).

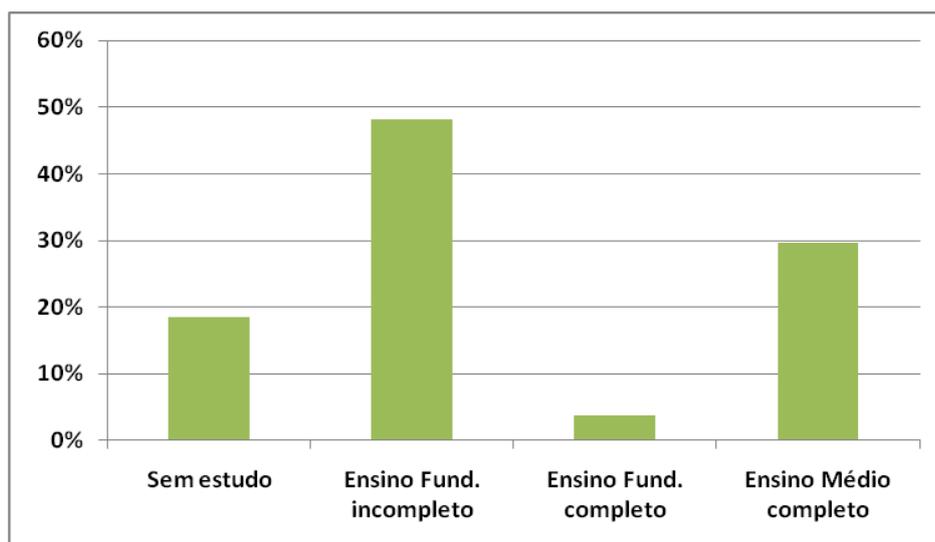


Figura 27: Porcentagem dos participantes reativos no Prick- Test, segundo o grau de escolaridade - Planalto do Cajueiro – Maranguape-CE.

Referente às condições sanitárias, a água encanada estava presente na residência de 81 (89,9%) indivíduos. Ao correlacionarmos estes dados com o número de indivíduos alérgicos, observamos que 24 (88,8%) dos reativos no Prick Test, possuíam água encanada em suas residências. E quanto ao perfil de utilização da água, 14 (51,8%) moradores afirmaram não terem contato com os córregos que atravessam a comunidade, enquanto 13 (48,2%) afirmaram que utilizam a água para o lazer, banho e realização de tarefas domésticas.

Nos indivíduos avaliados, verificamos que os dados epidemiológicos: presença de água encanada e uso da água do rio, não tiveram nenhuma influência no resultado do teste cutâneo ($P > 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Uma associação inversa entre infecções crônicas por helmintos e doenças alérgicas em áreas tropicais tem sido demonstrada (MAIZELS, 2005). As infecções helmínticas são um dos fatores ambientais que possivelmente promovem um equilíbrio do sistema imune, diminuindo o risco para as doenças alérgicas (LEONARDI-BEE *et al.*, 2006). No entanto, em áreas onde as infecções helmínticas ocorrem somente esporadicamente ou são mais de natureza transitória os distúrbios atópicos parecem ser potencializados (OBIHARA *et al.*, 2006).

Nas últimas décadas, o desenvolvimento dos países e o processo de urbanização têm ocasionado mudanças nos padrões de higiene e nos estilos de vida das populações. Diante disso, algumas regiões do Brasil são foco em estudos científicos por se tratarem de locais que podem dispor de fatores de proteção para doenças alérgicas (NALEWAY, 2004).

Nos últimos anos, houve uma mudança no perfil da esquistossomose em algumas regiões do Brasil devido à implementação de intervenções de controle, desde 1976. Estas medidas de controle tiveram um impacto incontestável sobre prevalência, intensidade de infecção e morbidade. Todavia, no Estado do Ceará ainda ocorre a persistência da transmissão e quadros de infecções leves, em sua grande maioria. A infecção por *S. mansoni* é considerada leve quando o hospedeiro elimina menos que 100 ovos do parasito por grama de fezes (CARNEIRO, 2011).

A estratégia metodológica mundial atualmente aplicada para o diagnóstico da esquistossomose mansoni, utilizando o método de Kato-Katz com uma amostra e uma lâmina, para determinar a taxa da infestação não possui a alta sensibilidade para o diagnóstico, por consequência, os valores de prevalência da esquistossomose, em área de baixa endemicidade, ficam subestimados. No entanto, a sensibilidade dos testes parasitológicos pode ser melhorada através do aumento da quantidade de material fecal e / ou do número de lâminas examinadas. Em estudo realizado em Zhuxi, na China, a proporção de positivos pelo Kato-Katz, aumentou de 47% utilizando uma única amostra de fezes, para 68% após análise de sete amostras (YU *et al.*, 1998).

No Ceará, na localidade de Planalto do Cajueiro, área de baixa endemicidade para esquistossomose, resultados do estudo de Pinheiro, 2010, mostraram que a prevalência dessa doença era de 8,75%, pelo método de Kato-Katz. Nosso estudo foi realizado nessa mesma

localidade e realizamos o método de Kato-Katz, com a leitura de três lâminas por amostra, e podemos observar que 40 (16%) das 250 amostras foram positivas para *S. mansoni*.

É importante destacar que os métodos de diagnósticos coproscópicos e sorológicos são complementares (ZHOU *et al.*, 2007). A técnica imunológica indicada para o diagnóstico em massa da esquistossomose é a técnica de ELISA. Este ensaio cumpre os requisitos de baixo custo, reprodutibilidade, objetividade, resultados rápidos e automação (NOYA *et al.*, 2006). Diante disso, realizamos a técnica de Ig-G ELISA, buscando garantir a real negatividade dos indivíduos que iriam compor o grupo negativo, excluindo-se a possibilidade de esses apresentarem resposta imunológica aos testes imuno-alérgicos realizados, devido a infecção por esquistossomose, anteriormente. Dos 250 indivíduos analisados, 132 (53,8%) não foram reativos ao teste de ELISA, dos quais 52 foram selecionados aleatoriamente e compuseram o grupo negativo.

Em busca de detecção de outros parasitos, além do *S. mansoni*, visando análise de reatividade cruzada, ou interferência de outros parasitos, detectamos pelo método de Lutz que nos 39 indivíduos positivos para *S. mansoni*, em 14 apresentavam algum outro tipo de parasito. Dos 52 indivíduos do grupo negativo, em apenas 04 foram encontrados outros parasitos intestinais. O parasito com maior prevalência foi *Ascaris lumbricoides*, detectado em 06 indivíduos. Porém esses dados de co-infecção não foram considerados, uma vez que foram, em número, poucos parasitos foram detectados e com grande variedade de espécies.

Os indivíduos analisados no nosso estudo apresentaram uma baixa positividade no exame parasitológico de fezes, o que difere dos resultados de trabalhos de Scrivener *et al.* (2001), realizados em duas localidades na Etiópia, que observaram uma alta positividade, especialmente para helmintos, em regiões com saneamento básico deficiente, semelhante a localidade por nós trabalhada, onde se encontrou *Ascaris lumbricoides* em cerca de 40% das amostras analisadas. Da mesma forma já foi demonstrado que a ascariíase é uma das infecções helmínticas mais prevalentes no Brasil (PEREIRA *et al.*, 1995). Vale ressaltar que, alguns estudos sugerem que a infecção por *A. lumbricoides* tenha não um papel protetor para alergia, mas, ao contrário, contribua para a inflamação das vias respiratórias e agravamento da asma, através da migração das larvas (COOPER, 2009) ou talvez pelas evidências de que este helminto não promove o aumento dos níveis de IL-10 (PONTE *et al.*, 2006).

A baixa positividade no parasitológico de fezes observada em nosso trabalho talvez seja reflexo do tratamento antiparasitário fornecido a esta população e/ou a baixa

sensibilidade do teste realizado (NEVES *et al.*, 2005). Porém, o espectro parasitário e a prevalência variam em diferentes regiões, de acordo com as diferenças climáticas, sócio-econômicas, educacionais e sanitárias de cada área (CARVALHO, 2002).

Para analisarmos a influência da presença de infecção pelo *Schistosoma mansoni* na resposta alérgica, avaliamos a resposta dos indivíduos a alérgenos ambientais através do Prick test, sendo os indivíduos que reagissem a um, ou mais, antígeno, considerados alérgicos. De acordo com dados da literatura de trabalhos similares realizados em região de alta endemicidade para esquistossomose, esperávamos que os indivíduos com a parasitose fossem menos reativos ao teste alérgico, e isso realmente aconteceu, pois apenas 07 (17,9%) indivíduos do grupo positivo (com esquistossomose) reagiram a um ou mais dos alérgenos testados, enquanto 20 (38,5%) dos indivíduos do grupo negativo (sem esquistossomose) apresentaram reação.

Nossos resultados mostraram que os indivíduos infectados pelo *S. mansoni* tiveram menores taxas de prevalência de reatividade no teste alérgico, o que sugere que essa helmintose pode exercer um efeito protetor no desenvolvimento das doenças alérgicas. Resultado semelhante também foi observado por Catapani *et al.* (1997), ao estudar doenças alérgicas em uma área endêmica para esquistossomose no Brasil. Estes autores verificaram que a prevalência da asma foi menor nos indivíduos infectados.

A partir dos resultados obtidos no Prick test, em cada grupo, positivo e negativo, fizemos nova divisão entre alérgicos e não alérgicos, formando quatro grupos, de acordo com item 4.2.1 da metodologia. Nesses, devido o importante papel da IgE tanto nas respostas alérgicas quanto nas infecções por helmintos, realizamos a dosagem sorológica da IgE total, e observamos que as médias de valores de IgE nos novos grupos foram: 435,8UI/ml para Sm(+)_{PT(+)}; 363,6UI/ml para Sm(+)_{PT(-)}; 388,2UI/ml para Sm(-)_{PT(+)}; e 226,4UI/ml para Sm(-)_{PT(-)}. Usando os testes estatísticos ANOVA e Tukey, ao cruzarmos os dados em pares, diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre: Sm(+)_{PT(+)} e Sm(-)_{PT(-)}, (P<0,05); Sm(+)_{PT(-)} e Sm(-)_{PT(-)}, (P<0,01) e Sm(-)_{PT(+)} e Sm(-)_{PT(-)}, (P<0,01), ou seja, a dosagem de IgE nos indivíduos com esquistossomose e/ou reatividade no Prick test, como era de se esperar, foi maior do que naqueles sem parasito e sem reatividade no Prick test. Esses dados corroboram com o estudo de Cooper *et al.* (2003), onde foi demonstrado a inibição da reatividade cutânea para aeroalérgenos, em indivíduos com infecção helmíntica esteve associada à produção aumentada de IgE total. E também com os dados de Moraes *et al.*

(2001), onde o nível sérico de IgE total foi maior no grupo de atópicos do que nos não atópicos. Mas difere dos dados de Soto-Quiros *et al.* (1998), que mostraram que a diferença na concentração de IgE total encontrada entre os grupos analisados se devia principalmente aos fenômenos alérgicos e não com a presença de parasitoses.

Observamos diferenças na concentração de IgE total entre indivíduos do sexo masculino e feminino, onde a média de concentração foi de 365,86UI/ml nos homens e de 263,40UI/ml nas mulheres, embora Nyan *et al.* (2001), tenha relatado uma maior concentração de IgE total em mulheres.

O efeito da infecção pelo *S. mansoni* na modulação da resposta alérgica tem sido demonstrado por estudos realizados no Brasil (MEDEIROS *et al.*, 2004) e na África (Van Den BIGGELAAR *et al.*, 2000). Além da produção aumentada de IgE inespecífica em indivíduos infectados, um dos mecanismos fisiopatológicos mais aceitos para explicar como as infecções helmínticas inibem a alergia envolve a indução de mecanismos regulatórios capazes de limitar as atividades imunes Th1 e Th2 exacerbadas, o que evitaria o surgimento não apenas das doenças alérgicas, mas também das doenças auto-imunes (FRANCIS *et al.*, 2003). Esta regulação envolveria mecanismos regulatórios mediados por células e por citocinas com ação imunossupressora, como a interleucina 10 (IL-10), presentes em infecções crônicas (PONTE *et al.*, 2007).

O eosinófilo desempenha um papel central na patogenia das doenças alérgicas é conhecido como potente célula efetora citotóxica. São glóbulos brancos que têm o poder de destruição de parasitas e tecidos, sendo, no entanto, susceptível de causar doença. Sua função primária parece ser a defesa contra organismos que são muito grandes para serem fagocitados, particularmente, helmintos (BEHM; OVINGTON, 2000). A sua função é estimulada por mediadores lipídicos e citocinas libertadas por outras células (LOPES *et al.*, 2006).

Em relação a quantidade de eosinófilos obtida pelo hemograma, ao cruzarmos os dados dos grupos, no teste Tukey, diferenças significativas foram encontradas entre: Sm(+)_{PT(+)} e Sm(-)_{PT(+)}, Sm(+)_{PT(+)} e Sm(-)_{PT(-)} ; Sm(+)_{PT(-)} e Sm(-)_{PT(+)} e entre Sm(+)_{PT(-)} e Sm(-)_{PT(-)}, (P<0,001). Com isso podemos verificar que em nosso estudo, o número de eosinófilos foi maior no grupo de indivíduos com a presença do parasito, não apresentando associação entre o aumento do número de eosinófilos, e a reatividade ou não ao teste alérgico.

É bastante conhecido que a eosinofilia sanguínea está presente, principalmente, em pacientes com parasitoses e/ou alergias. Os eosinófilos são capazes de agir contra

helmintos liberando agentes microbicidas no mecanismo conhecido como ADCC (citotoxicidade celular dependente de anticorpos) envolvendo os anticorpos da classe IgE. São uma das principais células que participam ativamente da defesa contra *S. mansoni*. No nosso estudo, em relação a contagem de eosinófilos, observamos que existiu uma diferença significativa no número de células contadas entre os grupos Sm(+)_{PT(-)} (21075 células/ml) e Sm(-)_{PT(+)} (519 células/ml). Possivelmente, essa diferença se observa devido ao envolvimento destas células nos mecanismos efetores de imunidade anti-*Schistosoma*, o que exige o recrutamento de um maior número de células para que o parasito possa ser completamente envolvido, que é um mecanismo essencial na reposta citotóxica ao *S. mansoni*.

Os eosinófilos são células pró-inflamatórias associadas com as doenças alérgicas e infecções parasitárias (THORNE&MAZZA, 1991). Acredita-se que os eosinófilos desempenham um importante papel de proteção na resposta imune à infecção pelo *Schistosoma mansoni* (BUTTERWORTH *et al.*, 1979). Tal hipótese é baseada principalmente nas evidências histopatológicas da presença de elevado número de eosinófilos ao redor do verme, em amostras de biópsia (COX, 1998) e também pelo fato de *in vitro* os eosinófilos mediarem a destruição de esquistossômulos, na presença de anticorpos e / ou do sistema complemento (DAVID *et al.*, 1980).

Em busca de traçar um perfil de resposta imunológica dos indivíduos estudados, realizamos, por citometria de fluxo, a contagem de algumas das sub-populações linfocitárias. Pudemos observar que houve diferença estatisticamente significativa apenas entre linfócitos CD3+CD4+ (células T helper) e linfócitos CD3+CD8+ (células T citotóxicas) dos grupos Sm (+) PT (-) e Sm (-) PT (-).

O fato de os níveis de linfócitos CD4+ terem sido significativamente maiores, quando se compara os grupos Sm(+)_{PT(-)} e o grupo negativo, pode ser devido há um já reconhecido aumento dos níveis de IgE, em infecções helmínticas, e como a síntese de IgE é dependente da ativação de células T auxiliares CD4+ do subgrupo Th2, justifica-se o aumento na contagem das células CD4+.

Pacientes em fase crônica da esquistossomose apresentam uma elevação dos níveis de linfócitos T citotóxicos (CD4+CD8+), indicando uma diferença da ativação das subpopulações das células T nas diferentes fases da doença (MARTINS-FILHO *et al.*, 1999), o que poderia justificar a diferença significativa (P<0,05) encontrada quando se comparam os grupos com (Sm(+)_{PT(-)}) e sem esquistossomose (Sm(-)_{PT(-)}).

As células NK CD56+ contribuem para a imunidade aos parasitos, agindo, na maioria das vezes por ADCC, resposta celular que envolve anticorpos da classe IgE, e resulta em uma atividade citotóxica que pode matar diretamente os patógenos pela liberação de grânulos tóxicos (LORENZI *et al.*, 2009). Diante disso, era de se esperar que tivesse havido uma diferença significativa entre os valores de células NK CD56+ em indivíduos com e sem esquistossomose, tendo em vista a participação desta célula na resposta imune nesta doença. Entretanto, não houve diferença significativa na análise estatística realizada ($P > 0,05$) nos grupos estudados.

No que diz respeito aos níveis de linfócitos B (CD19+), não foram observadas diferenças significativas nos grupos em estudo, ou seja, a presença ou ausência de esquistossomose e/ou reatividade ao teste alérgico não causou variação na quantificação dessa sub-população linfocitária. Entendendo que a ativação do linfócito B leva a diferenciação de plasmócitos em anticorpos, esperava-se que a significância das diferenças fosse semelhante às encontradas quando realizada a análise dos resultados desta imunoglobulina.

A relação entre características socioeconômicas e doenças alérgicas também tem sido amplamente discutida, devido à hipótese de que o aumento na prevalência dessas doenças seria consequência de melhores condições de vida e, por conseguinte, menor exposição a doenças infecciosas. Neste estudo, tendo alergia como parâmetro, buscamos encontrar alguma correlação entre a presença/ausência de alergia, por reatividade ao Prick Teste, e alguns dos fatores sócio-ambientais avaliados no questionário sócio-econômico aplicado.

Utilizamos os dados dos 27 indivíduos reativos no Prick Test para essa análise e verificamos que apenas a idade se mostrou relevante dentre os fatores analisados, observando-se uma relação inversa, isto é, quanto menor a idade, mais chances o indivíduo tem de ser alérgico. Uma possível causa para isto, pode ser o fato de que quanto menor a idade do indivíduo, menor a probabilidade de ter tido alguma parasitose, e assim, ocorre maior desenvolvimento de alergia. De acordo com a hipótese da higiene, as políticas de vacinação e de saneamento básico implantadas nas últimas décadas em países desenvolvidos previnem doenças infecciosas na infância, o que impede o equilíbrio imunológico, explicando o aumento da prevalência de doenças alérgicas.

O estudo de Prescott *et al.* (1999), mostra que, entre os fatores ambientais que podem influenciar o surgimento de doenças alérgicas, estão as infecções na infância. Em recém nascidos, a população de linfócitos T do cordão umbilical tem atividade imunológica

predominantemente Th2, semelhante ao que ocorre em indivíduos alérgicos. É possível supor que haja uma predisposição natural para o desenvolvimento de doenças alérgicas na infância e que as doenças infecciosas adquiridas nesta faixa etária contribuam para o desenvolvimento de um equilíbrio da atividade imunológica.

Evidências de um efeito protetor, relacionado à ausência de banheiro e de água canalizada nas casas, também têm sido documentadas por estudos que avaliaram fatores de risco para a atopia em comunidades rurais do Equador (COOPER *et al.*, 2003) e do Vietnã (FLOHR *et al.*, 2006). Porém estes dados diferem dos obtidos por nós, pois não encontramos nenhuma relação entre esses fatores e alergia, talvez devido ao pequeno número amostral, e/ou por se tratar de área de baixa endemicidade para esquistossomose.

O sexo masculino foi um fator individual que esteve associado com maior risco para alergia, uma vez que 35,0% dos homens apresentou alergia, enquanto apenas 24,5% das mulheres apresentou, estando de acordo com os resultados descritos por Casagrande *et al.* (2008). A relação entre sexo e o risco para alergia ainda não está muito clara, mas sugeriu-se que fatores associados aos tipos hormonais e às exposições ambientais específicas de cada sexo, sejam algumas das explicações plausíveis para essa relação (ALMQVIST *et al.*, 2007).

Atualmente, diversas doenças alérgicas e auto-imunes tem sido experimentalmente tratadas com antígenos parasitários. No entanto, deve-se salientar que a imunoterapia utilizando helmintos nem sempre irá controlar/reduzir a incidência ou gravidade das condições auto-imunes ou alérgicas. Há relatos epidemiológicos e experimentais que mostram que os helmintos podem agravar essas doenças (ERB *et al.*, 2009). Além da habilidade dos helmintos de polarização para resposta Th2, alérgenos contidos nesses vermes podem explicar parcialmente os mecanismos de exacerbação (ACEVEDO *et al.*, 2009). Assim, a seleção cuidadosa do helminto a ser utilizado e sua doença-alvo é essencial. Novos estudos sobre os mecanismos envolvidos na relação parasito-alergia mesmo em situações de baixa carga parasitária e estudos sobre a evolução da doença parasitária e alérgica são necessários para futuras possibilidades de tratamento em seres humanos.

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que:

1. A presença da infecção pelo *S. mansoni* se mostrou um fator protetor para o desenvolvimento da alergia nos indivíduos da área de baixa endemicidade em estudo, os quais possuem baixa carga parasitária.
2. O aumento da concentração de IgE está diretamente relacionado com doenças parasitárias e alérgicas. Entretanto, não é possível distinguir as duas enfermidades apenas pelo valor de sua concentração.
3. É possível distinguir a eosinofilia de pessoas infectadas pelo *S. mansoni* daquelas com alergia, pela maior concentração de eosinófilos nos pacientes parasitados.
4. Pacientes parasitados pelo *S. mansoni* desenvolveram uma resposta imunológica que induziu a um aumento do número dos linfócitos CD3+CD4+ e linfócitos CD3+CD8+, condição não observadas nos processos alérgicos.
5. O desenvolvimento de reações alérgicas foi inversamente proporcional à idade dos indivíduos.

7 REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

ACEVEDO, N.; ANCHEZ, J. S.; ERLER, A. *et al.*, IgE cross-reactivity between *Ascaris* and domestic mite allergens: the role of tropomyosin and the nematode polyprotein ABA-1,” **Allergy**, v. 64, n. 11, p. 1635–1643, 2009.

ALMQVIST, C. *et al.* Impact of gender on asthma in childhood and adolescence and helminth infections. **J. Bras. Pneumol.**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 335-342, June 2007.

ARAUJO, M. I.; HOPPE, B.; MEDEIROS, M.; ALCANTARA, L.; ALMEIDA, M. C.; SCHRIEFER, A. *et al.* Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. **J. Infect. Dis.**, v. 190, n. 10, p. 1797-1803, 2004.

ARAUJO, M. I.; MEDEIROS JUNIOR, M.; CARDOSO, L. S.; OLIVEIRA, R. R.; CARVALHO, E. M. Sistema de Regulação da Resposta Imune Alérgica. **Gaz. Méd. Bahia**, v. 78, supl. 2, p. 18-25, 2008.

BEHM, C. A.; OVERTON, K. S. The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. **Parasitol. Today**, v. 16, n. 5, p. 202-209, 2000.

BLOOMFIELD, S. F. *et al.* Too clean, or not too clean: the hygiene hypothesis and home hygiene. **Clin. Exp. Allergy**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 402-425, Apr. 2006.

BOTTIEAU, E.; CLERINX, J.; De VEGA, M. R.; Van den ENDEN, E.; COLEBUNDERS, R.; Van ESBROECK, M.; VERVOOT, T.; Van GOMPEL, A.; Van den ENDE, J. Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. **J. Infection**, v. 52, p. 339–345, 2006.

BUTTERWORTH, A. E.; WASSOM, D. L.; GLEICH, G. J.; LOEGERING, D. A.; DAVID, J. R. Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced directly by eosinophil major basic protein, **J. Immunol.** 1979

CALICH, V. L. G.; VAZ, C. A. C. **Imunologia**. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.

CARNEIRO, T.R.. Avaliação da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em amostras de fezes para diagnóstico da Esquistossomose em região de baixa endemicidade, no estado do Ceará. 90p. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2011.

CARRADA BRAVO, T. Asthma: prevalence, pathogenesis and perspectives on new treatments. **Rev. Alerg. Mex.**, v. 49, n.3, p. 87-94, 2002.

CARVALHO, C. R.; LENZI, H. L.; CORREA-OLIVEIRA, R.; VAZ, N. M. Indirect 13 effects of oral tolerance to ovalbumin interfere with the immune responses triggered by 14 *Schistosoma mansoni* eggs. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 35, n. 10, p. 1195-1199, 2002.

CARVALHO, OMAR DOS S. (ORG.); COELHO, PAULO M. Z. (ORG.) & LENZI, HENRIQUE L. (ORG.). **Schistosoma mansoni & Esquistossomose: uma visão multidisciplinar**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

CASAGRANDE, R. R. D. *et al.* Prevalência de asma e fatores de risco em escolares, **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 517 - 523, June 2008.

CATAPANI, W. R. *et al.* Prevalence of allergic diseases en patients with schistosomiasis mansoni. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Saint Louis, v. 100, n. 1, p. 142, July 1997.

CHEEVER, A. W.; HOFFMANN, K. F.; WYNN, T. A. Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. **Immunol. Today**, v. 21, p. 465-466, 2000.

CHER & MOSMANN. Two types of helper T cell clone II Delayed-type hypersensitivity is mediated by Th1 clones. **J.Immunol.** v. 138, p 3688, (1987).

CHITSULO, L.; ENGELS, D.; MONTRESOR, A.; SAVIOLI, L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Tropica**, v. 77, p. 41-51, 2000.

COOPER, P. J. *et al.* Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 168, n. 3, p. 313-317, Aug. 2003

COOPER, P. J. *et al.* Asthma in Latin America: a public health challenge and research opportunity. **Allergy**, Copenhagen, v. 64, n. 1, p. 5-17, Jan. 2009.

COOPER, P. J.; BARRETO, M. L.; RODRIGUES, L. C. Human allergy and geohelminth infections: a review of the literature and a proposed conceptual model to guide the investigation of possible causal associations. **Br. Med. Bull.**, London, v. 79, n. 80, p. 203-218, Jan. 2007.

COOPER, P. J.; CHICO, M. E.; BLAND, M.; GRIFFIN, G. E.; NUTMAN, T. B. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 168, n. 3, p. 313-317, 2003.

CORREA-OLIVEIRA, R.; MALAQUIAS, L. C.; FALCÃO, P. L.; VIANA, I. R.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M.; SILVEIRA, A. M. *et al.* Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *S. mansoni* infection. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 31, n. 1, p. 171-177, 1998.

COX, F. Immune effectors mechanisms in parasitic infections. **Parasitol. Today**, v. 14, p. 504, 1998.

CVE. Centro de Vigilância epidemiológica. Esquistossomose mansoni. **Informe técnico**, São Paulo, 2009. Disponível em: [http:// www.cve.sp.gov.br](http://www.cve.sp.gov.br).

DAVID, J. R.; BUTTERWORTH, A. E.; VADAS, M. A. Mechanism of interaction mediating Killing of *Schistosoma mansoni* by human eosinophils. **Trop. Med. Hyg.**, 29(5), 1980, pp. 842-848

DE JESUS, A. R.; SILVA, A.; SANTANA, L. B.; MAGALHAES, A.; DE JESUS, A. A.; ALMEIDA, R. P.; REGO, M. A.; BURATTINI, M. N.; PEARCE, E. J.; CARVALHO, E. M. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. **J. Infect. Dis.**, v. 185, p. 98-105, 2002.

DOENHOFF, M. J.; CHIODINI, P. L.; HAMILTON, J. V. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? **Trends Parasitol.**, v. 20, p. 35-39, 2004.

DOETZE, A.; SOTOQUINA, J.; BURCHARD, G.; RAU, T.; LÖLIGER, C.; FLEISCHER, B. *et al.* Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in a chronic human helminth infection is mediated by T(h)3/T(r)1-type cytokines IL-10 and transforming growth factor-beta but not by a T(h)1 to T(h)2 shift. **Int. Immunol.**, v. 12, n. 5, p. 623-630, 2000.

DOLD, S.; HEINRICH, J.; WICHMANN, H. E.; WJST, M. Ascaris-specific IgE and allergic sensitization in a cohort of school children in the former East Germany. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 102, n. 3, p. 414-420, 1998.

ELSE, K. J.; FINKELMAN, F. D. Intestinal nematode parasites, cytokines and effector mechanisms. **Int. J. Parasitol.**, v. 28, p. 1145-1158, 1998.

ENGELS, D.; SINZINKAYO, E.; GRYSEELS, B. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 54, n. 4, p. 319-324, 1996.

ERB, K. J. Can helminths or helminth-derived products be used in humans to prevent or treat allergic diseases? **Trends Immunol.**, v. 30, n. 2, p. 75–82, 2009.

FERREIRA, M. A. Inflammation in allergic asthma: initiating events, immunological response and risk factors. **Respirology**, v. 9, n. 1, p. 16-24, 2004.

FILLATREAU, S.; SWEENIE, C. H.; MCGEACHY, M. J.; GRAY, D.; ANDERTON S. M. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. **Nat. Immunol.**, v. 3, n.10, p. 944-950, 2002.

FINKELMAN, F. D.; SHEA-DONOHUE, T.; GOLDHILL, J.; SULLIVAN, C. A.; MORRIS, S. C.; MADDEN, K. B.; GAUSE, W. C.; URBAN, J. F. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. **Annu Rev Immunol.**;15:505-33. 1997.

FLOHR, C. *et al.* Poor sanitation and helminth protect against skin sensitization in Vietnamese children: A cross-sectional study. **Allergy and Clinical Immunology**, 2006.

FRANCIS, J. N.; TILL, S. J.; DURHAM, S. R. Induction of IL-10+CD4+CD25+ T cells by grass pollen immunotherapy. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 111, n. 6, p. 1255-1261, 2003.

GARGIONI, C.; DA SILVA, R. M.; THOMÉ, C. M.; QUADROS, C. M. DA S.; KANAMURA, H. Y. Utilização de método sorológico como ferramenta diagnóstica para implementação da vigilância e controle da esquistossomose no Município de Holambra, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 373-379, 2008.

GARN, H.; RENZ, H. Epidemiological and immunological evidence for the hygiene hypothesis. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 212, n. 6, p. 441-452, June 2007.

GEIGER, S. M.; MASSARA, C. L.; BETHONY, J.; SOBOSLAY, P. T.; CARVALHO, O. S.; CORREA – OLIVEIRA, R. Cellular Responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. **Parasite Immunol.**, v. 24, n. 11/12, p. 499-509, 2002.

GILLIET, M.; LIU, Y. J. Generation of human CD8 T regulatory cells by CD40 ligand-activated plasmacytoid dendritic cells. **J. Exp. Med.**, v. 195, n. 6, p. 695-704, 2002

GUIMARÃES, I. C. S.; TAVARES-NETO, J. Transmissão urbana de esquistossomose em crianças de um bairro de Salvador, Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 5, p. 451-455, 2006. haematobium: a role for parasite-induced interleukin-10. **Lancet**, v. 356, n. 9243, p. 1723-1727, 2000.

HARBY, M. M. *et al.* Asthma in preschool children: prevalence and risk factors. **Thorax**, London, v. 56, n. 8, p. 589-595, Aug. 2001.

HESS, C.; STEIGER, J. U.; SCHIFFERLI, J. A. Complement and its role in immune response. **Schweiz Med. Wochenschr.**, v. 128, p. 393-399, 1998.

HOLT, P. G.; JONES, C. A. The development of immune system during pregnancy and early life. **Allergy**, v. 55, n. 8. P. 688-697, 2000.

HOTEZ, P.J.; MOLYNEUX, D.H.; FENWICK, A.; OTTESEN, E.; EHRLICH SACHS, S.; SACHS, J.D. Incorporating a rapid-impact package for neglected tropical diseases with programs for HIV/AIDS, tuberculosis, and malaria. **PLoS Med.** v.3, e.102, 2006.

HUSSEIN, M. R.; ABU-DIEF, E. E.; EL-HADY, H. A.; Mahmoud, S. S.; Salah, E. M. Quantitative comparison of infected *Schistosomiasis mansoni* and *Haematobium*: animal model analysis of the granuloma cell population. **J. Egypt Soc. Parasitol.**, v. 35, n. 2, p. 467-476, 2000.

JONES, M. Understanding of the molecular mechanisms of allergy. **Methods Mol. Med.**, v. 138, p. 1-15, 2008.

KATO-HAYASHI, N.; KIRINOKI, M.; IWAMURA, Y.; KANAZAWA, T.; KITIKOON, V.; MATSUDA, H. Identification and differentiation of human schistosomes by polymerase chain reaction. **Exp. Parasitol.**, v. 124, n. 3, p. 325-329, 2010.

KATZ, N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. P. A simple device for quantitative stool thick-smear in *Schistosoma mansoni*. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 14, p. 397-400, 1972.

KEREN, D. F.; HANSON, C. A.; HURTUBISE, P. E. **Flow cytometry and clinical diagnosis**. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, 1994.

KING, C. H.; DICKMAN, K.; TISCH, D. J. Reassessment of the cost of chronic helminthic infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. **Lancet**, 2000.

KLION, A. D.; NUTMAN, T. B. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 113, n. 1, p. 30-37, 2004.

LARCHÉ, M.; AKDIS, C. A.; VALENTA, R. Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. **Nature**, v. 6, p.761-771, 2006.

LEONARDI-BEE, J.; PRITCHARD, D.; BRITTON, J. Asthma and current intestinal infection: a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. **Lancet**, 2006.

LIM, S.; CRAWLEY, E.; WOO, P.; BARNES, P. J. Haplotype associated with low interleukin-10 production in patients with severe asthma. **Lancet**, v. 352, n. 9122, p. 113, 1998.

LIN, D. D.; LIU, J. X.; LIU, Y. M.; HU, F.; ZHANG, Y. Y.; XU, J. M.; LI, J. Y.; JI, M. J.; BERGQUIST, R.; WU, G. L.; WU, H. W. Routine Kato-Katz technique underestimates the prevalence of *Schistosoma japonicum*: a case study in an endemic area of the People's Republic of China. **Parasitol. Int.**, v. 57, n. 3, p. 281-286, 2008.

LOPES, C.; RAVASQUEIRA, A.; SILVA, I.; CAIADO, J.; DUARTE, F.; DIDENKO, I.; SALGADO, M.; SILVA, S. P.; FERRÃO, A.; PITÉ, H.; PATRÍCIO, L.; BORREGO, L. M. Allergy School Hannover 2006: Allergy, from diagnosis to treatment. **Rev. Port. Imunoalergol.**, Lisboa, v. 14, n. 4, p. 355-364, 2006.

LYNCH, N. R.; PALENQUE, M.; HAGEL, I.; DIPRISCO, M. C. Clinical improvement of asthma after anthelmintic treatment in a tropical situation. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 156, n. 1, p. 50-54, 1997.

MacDONALD, A.; ARAUJO, M. I.; PEARCE, E. J. Immunology of parasitic helminth infection. **Infect Immun.**, v. 70, p. 427-433, 2002.

MAIZELS, R. M. Infections and allergy—helminths, hygiene and host immune regulation. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 17, p. 656-661, 2005.

MALAQUIAS, L. C. C.; FALCÃO, P. L.; SILVEIRA, A. M. S.; GAZZINELLI, G.; PRATA, A.; COFFMANN, R. L.; PIZZOLO, V. R.; CORRÊA-OLIVEIRA, R. Cytokine regulation of human response to *Schistosoma mansoni*: analysis of the role of IL-4, IL-5 and IL-10 on peripheral blood mononuclear cells responses. **Scan. J. Immunol.**, v. 46, p. 393-398, 1997.

MARTI, G. E.; STEVENSON, M.; BLESSING, J. J.; FLEISHER, T. A. Introduction to Flow Cytometry. **Semin. Hematol.**, v. 38, n. 2, p. 93-98, 2001.

MARTINS-FILHO, O. A.; CUNHA-MELO, J. R.; LAMBERTUCCI, J. R. *et al.* Clinical forms of human *Schistosoma mansoni* infection are associated with differential activation of T cell subsets and costimulatory molecules. **Dig. Dis. Sci.**, v. 44, p. 570-577, 1999.

MCGUIRK, P.; MCCANN, C.; MILLS, K. H. Pathogen-specific T regulatory 1 cells induced in the respiratory tract by a bacterial molecule that stimulates interleukin 10 production by dendritic cells: a novel strategy for evasion of protective T helper type 1 responses by *Bordetella pertussis*. **J. Exp. Med.**, v. 195, n. 2, p. 221-321, 2002.

MEDEIROS, M. *et al.* Low frequency of positive skin tests in asthmatic patients infected with *Schistosoma mansoni* exposed to high levels of mite allergens. **Pediatr. Allergy Immunol**, Copenhagen, v. 15, n. 2, p. 142-147, Apr. 2004.

MEDEIROS, M.; FIGUEIREDO, J. P.; ALMEIDA, M. C.; MATOS, M. A.; ARAÚJO, M. I.; CRUZ, A. A. *et al.* *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 111, n. 5, p. 947-951, 2003.

MOLYNEUX, D.H.; HOTEZ, P.J.; FENWICK, A. “Rapid-impact interventions”: how a policy of integrated control for Africa’s neglected tropical diseases could benefit the poor. **PLoS Med.**v.2, p.1064–1070, 2005.

MOORE, K. W.; De WAAL MALEFYT, R.; COFFMAN, R. L.; O’GARRA, A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 1, p. 683-765, 2001.

MORAES, L. S.; BARROS, M. D.; TAKANO, O. A.; ASSAMI, N. M. Risk factors, clinical and laboratory aspects of asthma in children. **J. Pediatr. (Rio J)**, v. 77, n. 6, p. 447-454, 2001.

MORGAN, B. P.; WALPORT, K. B. M. Complement deficiency and disease. **Immunol. Today**, v. 12, p. 301-306, 1991.

MOSMANN, T. R.; SAD, S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. **Immunol. Today**, v. 17, n.3, p. 138-146, 1996.

NALEWAY, A. L. Asthma and atopy in rural children: is farming protective? **Clin. Med. Res.**, Stanford, v. 2, n. 1, p. 5-12, Feb. 2004.

NEVA, F. A.; BROWN, H. W. **Basic clinical parasitology**. Norwalk: Appleton & Lange, 1994.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. A. **Parasitologia humana**. 11. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005.

NOYA, B. A.; BALZAN, C.; ARTEGA, C.; CESARI, I.; NOYA, O. The last fifteen years of schistosomiasis in Venezuela: features and evolution. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 136-146, 1999.

NOYA, B. A.; RUIZGUEVARA, R.; COLMENARES, C.; LOSADA, S.; NOYA, O. Low transmission areas of schistosomiasis in Venezuela: consequences on the diagnosis, treatment, and control. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.101, p. 29-35,2006.

NOYA, O.; ALARCÓN DE NOYA, B.; LOSADA, S.; COLMENARES, C.; GUZMÁN, C.; LORENZO, M. A.; BERMÚDEZ, H. Laboratory Diagnosis of Schistosomiasis in Areas of Low Transmission. A Review of a Line of Research. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 167-169, 2002.

NYAN, O. A.; WALRAVEN, G. E.; BANYA, W. A.; MILLIGAN, P.; VAN DER SANDE, M.; CEESAY, S. M. *et al.* Atopy, intestinal helminth infection and total IgE in rural and urban adult Gambian communities. **Clin. Exp. Allergy**, v. 11, n. 24, p. 1672-1677, 2001.

OBIHARA, C. C.; BEYERS, N.; GIE, R. P.; HOEKSTRA, M. O.; FINCHAM, J. E.; MARAIS, B. J. *et al.* Respiratory atopic disease, Ascaris-immunoglobulin E and tuberculin of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 15, p. 505-533, 1997.

PALMER, L. J. *et al.* *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, New York, v. 165, n. 11, p. 1489-1493, June 2002.

PEREIRA, R. M.; TRESOLDI, A. T.; BELANGERO, V. M.; BUCARETCHI, F.; HESSEL, G.; DA SILVA, J. M. Liver abscess in childhood: report of 8 cases. **Arq. Gastroenterol.**, v. 32, n. 4, p. 186-190, 1995

PINHEIRO, M.C.C. Avaliação de três métodos coproscópicos para diagnóstico da esquistossomose mansônica em área de baixa endemicidade no estado do Ceará. 2010. **Dissertação** (Mestrado em Patologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

PLATTS-MILLS, T. A.; WHEATLEY, L. M. The role of allergy and atopy in asthma. **Curr Opin Pulm Med.** 1996 Jan;2(1):29-34

PONTE, E. V.; RIZZO, J. A.; CRUZ, A. A. Interrelationship among asthma, atopy, and helminth infections. **J. Bras. Pneumol.**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 335-342, June 2007.

PORTNOY, J. Diagnostic testing for allergies. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, v. 96, p. 3-4, 2006.

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**, v. 353, n. 9148, p. 196-200, 1999.

ROMAGNANI, S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? **Immunology**, v. 112, n. 3, p. 352-363, 2004.

SARAIVA, M.; O'GARRA, A. The regulation of IL-10 production by immune cells. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 10, n. 3, p. 170-181, 2010.

SCRIVENER, S.; YEMANEBERHAN, H.; ZEBENIGUS, M.; TILAHUN, D.; GIRMA, S.; ALI, S. *et al.* Independent effects of intestinal parasite infection and 8 domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. **Lancet**, v. 358, n. 9292, p. 1493-1499, 2001.

SEARS, M. R. Epidemiology of childhood asthma. **Lancet**, v.350, p.1015-1020, 1997.

SILVEIRA, A. M.; GAZZINELLI, G.; ALVES-OLIVEIRA, L. F.; BETHONY, J.; GAZZINELLI, A.; CARVALHO-QUEIROZ, C.; ALVAREZ, M. C.; LIMA-SILVA, F. C.; PRATA, A.; LOVERDE, P. T.; CORREA-OLIVEIRA, R. Human schistosomiasis mansoni: intensity of infection differentially affects the production of interleukin-10, interferon-gamma and interleukin-13 by soluble egg antigen or adult worm antigen stimulated cultures. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 98, n. 9, p. 514-519, 2004.

SMITS, H. H.; HAMMAD, H.; VAN NIMWEGEN, M.; SOULLIE, T.; WILLART, M. A.; LIEVERS, E.; KADOUCHE, J.; KOOL, M.; KOS VAN OOSTERHOUD, J.; DEELDER, A. M.; LAMBRECHT, B. N.; YAZDANBAKHSI, M. Protective effect of *Schistosoma mansoni* infection on allergic airway inflammation depends on the intensity and chronicity of infection. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 120, n.4, p. 932-940, 2007.

SOARES, L. C. B.; DIAS, L. C. S.; KANAMURA, H. Y.; OLIVEIRA, E. J.; CIARAVOLO, R. M. Schistosomiasis mansoni: Follow-up of Control program based on parasitologic and serologic methods in a Brazilian community of low endemicity, **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 853-859, 2003.

SOLÉ, D. *et al.* Changes in the prevalence of asthma and allergic diseases among Brazilian schoolchildren (13-14 years old): comparison between ISAAC phases one and three. **J. Trop. Pediatr.**, London, v. 53, n. 1, p. 13-21, Feb. 2007.

SOTO-QUIROS, M.; GUTIERREZ, I.; CALVO, N.; ARAYA, C.; KARLBERG, J.; HANSON, L. A. *et al.* Allergen sensitization of asthmatic and nonasthmatic schoolchildren in Costa Rica. **Allergy**, v. 53, n. 12, p. 1141-1147, 1998.

STEVENS R. G.; JONES, D. Y.; MICOZZI, M. S.; TAYLOR, P. R. Body iron stores and the risk of cancer. **New Engl J Med** 1988;319:1047-52

STADECKER, M. J.; ASAHI, H.; FINGER, E.; HERNANDEZ, H. J.; RUTITZKY, L.; SUN, J. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. **Immunol. Rev.**, v. 201, p. 168-179, 2004.

STEINMANN, P.; KEISER, J.; BOS, R.; TANNER, M.; UTZINGER, J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. **Lancet Infect. Dis.**, v.6, p.411-425, 2006.

STRACHAN, D. P. *et al.* Childhood antecedents of allergic sensitization in young British adults. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Saint Louis, v. 99, n. 1, p. 6-12, Jan. 1997.

STRACHAN, D. P. Hay fever, hygiene and household size. **Br. Med. J.**, London, v. 299, n. 6710, p.1259-1260, Nov. 1989.

THORNE, K. J. I.; MAZZA, G. Eosinophilia, activated eosinophils and human schistosomiasis. **J. Cell Sci.**, v. 98, p. 265-270, 1991.

UMETSU, D.T.; MCINTIRE, J. J.; AKBARI, O.; MACAUBAS, C.; DEKRUYFF, R.H. Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. **Nat Immunol** 3: 715-720, 2002.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. Faculdade de Medicina da Bahia. Inflamação crônica granulomatosa - esquistossomose em parede intestinal. Disponível em:<http://www.medicina.ufba.br/patologia_i/microscopia>. Acesso em: 31 jan. 2011.

UTZINGER, J.; BOOTH, M.; N'GORAN, E. K.; MULLER, I.; TANNER, M.; LENGELER, C. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. **Parasitology**, v. 122, p.37-544, 2001

VALDIVIA, C. G. Epidemiological transition: the other side of the coin. **Rev. Méd. Chile**, Santiago, v. 134, n. 6, p. 675-678, jun. 2006.

Van den BIGGELAAR, A. H.; Van REE, R.; RODRIGUES, L. C.; LELL, B.; DEELDER, A. M.; KREMSNER, P. *et al.* Decreased Atopy in Children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite induced interleukin 10. **Lancet**, v. 356, n. 9243, p. 1723-1727, 2000.

VON MUTIUS, E. Asthma and allergies in rural areas of Europe. **Proc. Am. Thoracic Soc.**, v. 4, n. 3, p. 212-216, July 2007

WEINBERG, E. G. Urbanization and childhood asthma: an African perspective. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Saint Louis, v. 105, n. 1, p. 224-231, Feb. 2000.

WHO. **The Control of Schistosomiasis**, Geneva, 1993. (Technical Report Series, 83).

WHO. **The Social Context of Schistosomiasis and its Control**: an Introduction and Annotated Bibliography. Geneva, 2008.

WONG, G. W. K. *et al.* Environmental determinants associated with development of asthma in childhood. **Int. J. Tuberc. Lung Dis**, Paris, v. 10, n. 3, p. 242-251, Mar. 2006.

YAZDANBAKHSH, M.; KREMSNER, P.; VAN REE, R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. **Science**, Washington, v. 296, n. 5567, p. 490-494, Apr. 2002.

YAZDANBAKHSH, M.; MATRICARDI, P. M. Parasites and the hygiene hypothesis: regulating the immune system? **Clin. Rev. Allergy Immunol.**, v. 26, n. 1, p. 15-24, 2004.

YU, X.P.; DONNELLY, C.A.; ANDERSON, R.M.; FU, Y.L.; AGNEW, A. The distribution of *Schistosoma japonicum* eggs in faeces and the effect of stirring faecal specimens. **Trop Med Parasitol**, v.92, p. 181–185, 1998.

YSEEL, H.; SCHENEIDER, H. P.; SPITS, H. Production of il4 by human t cells and regulation of differentiation of t-cell subsets by IL4. **Res. Immunol.**, v. 144, n. 8, p. 610-616, 1993.

ZHOU, X.N.; GUO, J.G.; WU, X.H.; JIANG, Q.W.; ZHENG, J.; ET AL. Epidemiology of schistosomiasis in the People's Republic of China, 2004. **Emerg Infect Dis**, v.13, p. 1470–1476, 2007.

ZHU, Z.; HOMER, R. J.; WANG, Z.; CHEN, Q.; GEBA, G. P.; WANG, J.; ZHANG, Y.; ELIAS, J. A. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. **J. Clin. Invest.**, v. 103, n. 6, p. 779-788, 1999.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Eu, _____,
portador do RG _____, morador da rua

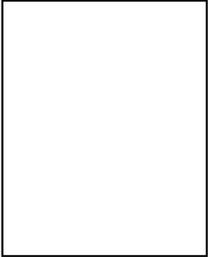
_____, estou sendo convidado a participar de um estudo denominado **Avaliação da Resposta Imuno-Alérgica de Pacientes com Esquistossomose Mansônica em Região de Baixa Endemicidade no Estado do Ceará**, cujos objetivos e justificativas são: Avaliar a resposta alérgica em pacientes com esquistossomose numa região de baixa endemicidade da doença no município de Maranguape no Estado do Ceará. A minha participação no referido estudo será no sentido de responder ao questionário, onde vou relatar, caso haja, meu histórico de alergias e contato com *Schistosoma mansoni*. Em segundo plano, será colhida uma amostra de fezes para diagnóstico parasitológico da esquistossomose, uma amostra de sangue para a realização dos testes sorológicos para alergia e será feito um teste cutâneo (Prick test) para avaliar a minha resposta imunológica para diversos alérgenos. Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: tratamento para esquistossomose caso seja confirmado a presença de *S. mansoni* e descobrir alergias que por mim ainda não eram conhecidas. Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. Assim, terei que colher uma amostra de sangue e realizar o teste cutâneo que pode causar um certo desconforto na hora do teste, por uma sensação de ardência no braço, entretanto não durará muito tempo. Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo. Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, ou se desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo. Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são: Dra. Sara Menezes de Oliveira, farmacêutica, mestranda da Universidade Federal do Ceará que poderei manter contato pelos telefones (85) 8671.2170, (88)8812.2170 ou (85)3366.8242, e o Prof. Dr. José Ajax Nogueira Queiroz que poderei manter contato pelo telefone (85)9904.3318, inclusive podendo ligar a cobrar. É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação. Caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, recebendo o tratamento necessário sem nenhum custo para mim, conforme determina a lei.

Para informações sobre os aspectos éticos da pesquisa entre em contato:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará

Rua Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo - Telefone: 3366.8338

Fortaleza, _____ de _____ de 2010



Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

Nome e assinatura de uma testemunha

Nome(s) e assinatura(s) do responsável legal do sujeito da pesquisa

Nome(s) e assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável(responsáveis)

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO

I – IDENTIFICAÇÃO

1. Nome _____
2. Localidade _____ N° _____
3. Apelido _____
4. Nome da Mãe _____
5. Data de Nascimento ____/____/____
6. Sexo
 Masculino Feminino
7. Estado Civil
 Solteiro Casado Desquitado Viúvo Outro
8. Profissão: _____
9. Tempo de Residência no município:

II – DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS

10. Anos de Estudo:
11. Grau de escolaridade:
12. Renda familiar (em salários mínimos):
13. Domicílio:
Próprio Alugado Cedido Outro
14. N° de Pessoas:
15. N° de Cômodos:
16. Paredes:
Alvenaria Madeira Pau-a-pique Mista Mista sem Palha Outra

17. Cobertura:

Telha () Zinco () Palha () Mista c/ Palha () Mista s/ Palha () Outra ()

III – DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

18. Possui fossa?

() SIM () NÃO

19. Possui cisterna no domicílio?

() SIM () NÃO

20. Caso possua, existe água encanada p/ o domicílio?

() SIM () NÃO

21. Usa água do rio?

() SIM () NÃO

22. Para que atividades?

23. Possui banheiro?

() SIM () NÃO

24. Faz uso?

() SIM () NÃO

25. Distância da casa ao rio:

26. Faz uso de bebida alcoólica?

() SIM () NÃO

27. Sabe o que é esquistossomose?

() SIM () NÃO

28. Sabe como se pega?

() SIM () NÃO

29. Recebeu alguma informação sobre esquistossomose?

() SIM () NÃO

IV – MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS:

30. Você tem ou já teve tosse persistente que não cedia ao tratamento?

SIM NÃO

31. Você já teve episódio de chiado que causou falta de ar ou fôlego curto?

SIM NÃO

32. Você já teve episódio de chiado que causou falta de ar ou fôlego curto nos últimos 12 meses?

SIM NÃO

33. Algum tipo de coceira ou vermelhidão no corpo?

SIM NÃO

34. Você já teve algum caso de alergia à alimentos?

SIM NÃO

Caso sim, qual foi o alimento? _____

Como se manifestou? Pele Tosse/espirros

Outros, especificar: _____

Em quanto tempo houve a reação?

Imediata Até uma hora Até 1 dia Mais de 1 dia

35. Alguma alergia conhecida?

SIM NÃO

Qual?

36. Alguma vez no passado você teve problema com espirros, ou coriza (corrimento nasal), ou obstrução nasal quando não estava resfriado?

SIM NÃO

37. Alguma vez nos últimos 12 meses você teve problema com espirros, ou coriza (corrimento nasal), ou obstrução nasal quando não estava resfriado?

SIM NÃO

38. Alguma vez na sua vida você teve mancha com coceira na pele (eczema), que aparecia e desaparecia por pelo menos 6 meses?

SIM NÃO

39. Nos últimos 12 meses você teve essas manchas na pele?

SIM NÃO

40. Alguma vez essas manchas com coceira (eczema) afetaram algum dos seguintes locais: dobras dos cotovelos, atrás dos joelhos, na frente dos tornozelos, abaixo das nádegas ou em volta do pescoço, orelhas ou olhos?

SIM NÃO

41. Na família há casos de bronquite, asma ou eczema?

SIM NÃO

Se sim, qual o grau de parentesco?

avós paternos avós maternos pai mãe

tios paternos tios maternos irmãos

outros, especificar: _____

42. Alguma história de reação anafilática (choque ou broncoespasmo)?

SIM NÃO

43. Alguma vez passou mal quando colheu sangue?

SIM NÃO

44. Já fez algum teste alérgico?

SIM NÃO

Caso sim, qual o resultado?
