



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

ANA MARIA AGUIAR DOS SANTOS

INFECÇÃO FILARIAL E ALERGIA

**Recife
2012**

ANA MARIA AGUIAR DOS SANTOS

INFECÇÃO FILARIAL E ALERGIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientador

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Linha de Pesquisa: Clínica e Epidemiologia das afecções imuno-alérgicas e infecciosas

**RECIFE
2012**

Catálogo na Publicação (CIP)
Bibliotecária: Gláucia Cândida – CRB4-1662

S237i Santos, Ana Maria Aguiar dos.
Infecção filarial e alergia / Ana Maria Aguiar dos Santos. –
Recife: O Autor, 2012.
135 f. : il.; 30 cm.

Orientador: Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS.
Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do
Adolescente, 2012.
Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Alergia e Imunologia. 2. Elefantíase Filarial. 3. Imunomodulação. 4.
Helmintíase. I. Sarinho, Emanuel Sávio Cavalcanti (Orientador). II.
Título.

618.92 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2013-008)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Sílvio Romero Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

COORDENADORA DA COMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO DO CCS

Prof^ª. Dra. Gisélia Alves Pontes da Silva

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

COLEGIADO

Profa. Dra. Marília de Carvalho Lima (Coordenadora)

Prof^ª. Dra. Maria Eugênia Farias Almeida Motta (Vice-Coodenadora)

Prof. Dr. Alcides da Silva Diniz

Prof^ª. Dra. Ana Bernarda Ludermir

Prof^ª. Dra. Ana Cláudia Vasconcelos Martins de Souza Lima

Prof^ª. Dra. Bianca Arruda Manchester de Queiroga

Prof^ª. Dra. Cláudia Marina Tavares de Araújo

Prof^ª. Dra. Cleide Maria Pontes

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Prof^ª. Dra. Luciane Soares de Lima

Prof^ª. Dra. Gisélia Alves Pontes da Silva

Prof^ª. Dra. Maria Gorete Lucena de Vasconcelos

Prof^ª. Dra. Mônica Maria Osório de Cerqueira

Prof. Dr. Paulo Sávio Angeira de Góes

Prof. Dr. Pedro Israel Cabral de Lira

Prof^ª. Rosemary de Jesus Machado Amorim

Prof^ª. Dra. Sílvia Regina Jamelli

Prof^ª. Dra. Sílvia Wanick Sarinho

Prof^ª. Dra. Sônia Bechara Coutinho

Prof^ª. Dra. Sophie Helena Eickmann

Jackeline Maria Tavares Diniz (Representante discente - Mestrado)

Fabiana Cristina Lima da Silva Pastich Gonçalves (Representante discente - Doutorado)

SECRETARIA

Paulo Sérgio Oliveira do Nascimento

Juliane Gomes Brasileiro

Janaína Lima da Paz



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

Título:

Infecção Filarial e Alergia

Nome: Ana Maria Aguiar dos Santos

Tese aprovada em: 31 / 08 / 2012

Membros da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho

Dra. Sílvia Maria Lucena Montenegro

Prof^a. Dra. Silvana de Fátima Ferreira da Silva Caires

Prof^a. Dra. Zulma Maria de Medeiros

Dr. Abraham César de Brito Rocha

Recife

2012

Aos meus pais: *Custodio e Terezinha (In Memoriam)*
que foram o alicerce em minha vida
e que hoje, em outro plano,
me iluminam e me protegem.

Aos meus irmãos: *Custodio Neto e Armenio*
que me fazem sempre acreditar
que só o AMOR supera a dor!

Ao meu esposo *Francisco* e minhas filhas *Beatriz e Eduarda*
que no dia a dia me fazem sentir o incomparável
valor de uma verdadeira família

Se houvesse um “título fantasia” para teses, essa receberia o nome RESILIÊNCIA. O caminho de travessia e a sua construção final foram resultado de um processo de superação de dificuldades e de enfrentamento das mais diversas adversidades. A sua conclusão ocorreu, não apenas por minha capacidade técnica ou intelectual, mas por uma conjuntura de fatores que me deram um equilíbrio físico, mental e espiritual proporcionado por várias pessoas e, em diversas circunstâncias e que me permitiram chegar a essa reta final. A todas elas sou extremamente grata.

Agradecimentos

À Deus por estar sempre ao meu lado e que me faz entender que as dificuldades trazem crescimento, que a dor fortalece e que a saudade também alimenta a vida.

Aos meus pais, Terezinha e Custódio, que com amor e dedicação incondicional, me ensinaram os princípios de fé, honestidade e lealdade.

Ao meu marido Francisco e minhas filhas Beatriz e Eduarda que com amor e carinho foram a força para continuar a caminhada.

Aos meus irmãos Custódio Neto e Armenio que sofreram comigo a cada dia os momentos sombrios, de angústias, incertezas e saudade, mas que não me deixaram perder a esperança de vencermos juntos essa fase.

À minha família: irmãos, sobrinhos, cunhadas, tia, primos cujos nomes não ousarei citar, para não ser traída pela memória... pelo apoio, pelas preces, pelo incentivo, pela saudade sentida e alegria a cada reencontro.

*Aos meus sobrinhos – **Daniel, António Custódio, Luíz e Marina** que através de seus sonhos e energia da juventude me ajudaram a manter o sorriso e a alegria nos momentos difíceis.*

*A meu orientador **Prof. Dr. Emanuel Sarinho** pela confiança que sempre me depositou e pelo seu otimismo que me fez acreditar que chegaria ao final.*

*À minha coorientadora **Dra. Sílvia Montenegro** pela participação e apoio nas diversas fases da construção, elaboração e discussão de resultados durante a tese.*

*À **Profª. Marília Lima**, que compartilhou em vários momentos dos percalços do caminho e conseguiu me passar a serenidade e a sabedoria necessária para aguardar o momento de um recomeço...*

*À **Profª. Gisélia Alves** que com sua experiência e segurança me estimulou a ir a busca de novos caminhos na construção de outro projeto na fase de qualificação.*

A todos os professores e colaboradores do Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente pela ajuda da construção de mais essa etapa profissional.

*Aos colegas de turma do Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente: **Altamira Reichert, Eduardo Just, José Henrique Moura, Paula Valença, e Magaly Bushatsky**, pela amizade e compartilhamento das indefinições e alegrias, dúvidas e vitórias.*

*À **Profª Almerinda Silva** e **Dra. Roberta Brito** da Universidade Federal de Pernambuco pela disponibilidade e colaboração na realização dos testes cutâneos.*

*A **Profª Vera Magalhães** da Universidade Federal de Pernambuco pelo carinho e prestímosa ajuda na realização de exames laboratoriais.*

Aos colegas do Hospital Barão de Lucena que por muitas vezes me substituíram nas atividades clínicas durante minhas necessárias ausências. À Dra. Valéria Bezerra que sempre me incentivou e com grande espírito de fraternidade me passou serenidade e a certeza de que “tudo vai dar certo..”

Às Secretarias de Educação e de Saúde de Olinda (Programa de Filariose) pela infraestrutura criada durante os trabalhos de campo.

A todos os colaboradores do Serviço de Referência em Filariose do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães /Fiocruz por toda a ajuda e espírito de equipe durante os trabalhos de campo e atendimentos ambulatoriais.

A Dra. Cynthia Braga pela ajuda na construção inicial do projeto e cálculo amostral.

Ao Dr. Abraham Rocha por acreditar na factibilidade do projeto e pelo envio para órgão de fomento, além da ajuda nos “desenlaces burocráticos” na compra de materiais.

Ao Dr. Eduardo Brandão pela disponibilidade e carinho com que realizou a revisão das referências bibliográficas.

A Dra. Sílvia Montenegro e Dra. Clarice Neuenschwander do Departamento de Imunologia pela disponibilidade de execução dos exames imunológicos e discussão de seus resultados

A João Quaresma por toda a dedicação e profissionalismo nas atividades de campo na localização e resgates dos pacientes.

A Dra. Ilma Araújo da Universidade Federal da Bahia pelo espírito científico e desprendimento com que cedeu os antígenos para estimulação dos testes imunológicos.

As “amigas-irmãs” Márcia Azevedo, Kátia Medeiros e Zulma Medeiros que sempre se fizeram presentes ao longo dessa trajetória

profissional e das dificuldades pessoais, me dando conforto, carinho e aconchego que foram indispensáveis na minha superação.

*A minha “segunda-mãe” **Helena Rodrigues**, que na sua simplicidade e humildade me dá lições do que seja superação, desprendimento e amor.*

*Ao “quarteto-maravilha”: **Ayla Alves, Maria José Netto, Conceição Oliveira e Cristine Bonfim** que, mesmo muitas vezes no silêncio e à distância me davam a certeza de poder contar com vocês.*

*À **Celeste Lessa** pelas preces, pelo carinho e delicadeza de “mãe” com que sempre esteve presente e atenta.*

*Às minhas secretárias **Maria José e Erlania** que, com carinho me deram o suporte e infraestrutura doméstica nas minhas necessárias e frequentes ausências.*

*Ao **Frei Aluísio Fragoso** que me deu apoio espiritual e conforto com suas sábias palavras em momentos tão sofridos.*

*A **Dra. Christiane Violet**, que com sua competência profissional e, particularmente com grande humanidade, alegria e otimismo me acompanha e me dá a esperança da cura.*

*A todos os participantes do **GAAPAC** (Grupo de Apoio e Ajuda a Pacientes com Câncer) que me acolheram e me ensinaram com suas histórias de vida, a ser forte, a superar a dor e acreditar sempre na possibilidade de uma vida plena e significativa.*

*A **Dione Barreto** que com profissionalismo e carinho me ajuda a trilhar esse difícil, mas belo caminho: o do autoconhecimento.*

*E, novamente meu muito obrigada a “**Crís**” e **Zulma**, sem as quais eu não teria chegado ao final....*

*“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas,
que já tem a forma do nosso corpo,
e esquecer os nossos caminhos,
que nos levam sempre aos mesmos lugares.
É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la,
teremos ficado, para sempre,
à margem de nós mesmos”.*

Fernando Pessoa

*“A coisa não está nem na
partida nem na chegada,
mas na travessia”*

Guimarães Rosa

Resumo

A prevalência de infecções helmínticas parasitárias tem declinado em países industrializados e, por outro lado, nas últimas duas a três décadas tem-se observado um significativo aumento na prevalência de doenças auto-imunes e alérgicas nessas regiões. Essas observações despertaram um crescente interesse no estudo da relação entre parasitoses e alergia com base na hipótese de que os helmintos possam causar proteção no desenvolvimento de doenças alérgicas. Contudo, a relação entre doenças parasitárias e alérgicas permanece incerta. Assim sendo, esse trabalho se propôs a investigar, em crianças e adolescentes com filariose bancroftiana residentes na Região Metropolitana do Recife-PE, Brasil, se o comportamento de imunomodulação descrito em indivíduos com infecção filarial pode modificar a resposta alérgica bem como o padrão de produção de citocinas frente à estimulação com antígenos aeroalérgenos e mitógenos.

O trabalho foi dividido em três estudos. O primeiro, sob o título “*Resposta Imune na filariose bancroftiana e sua repercussão na resposta alérgica*” consiste em uma revisão bibliográfica acerca do comportamento da resposta imunológica na filariose linfática, especialmente sobre a capacidade do parasito em modular o sistema imune do hospedeiro, tornando-o tolerante por longo tempo. O trabalho concluiu que seja possível a associação negativa entre a infecção filarial e a resposta aos aeroalérgenos e que esse comportamento possa trazer repercussões futuras com o controle da transmissão obtido através do tratamento em massa. O segundo foi intitulado “*Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais*”. Trata-se de um estudo transversal, com 159 infantes na faixa etária de 5 a 18 anos, alunos de escolas públicas municipais, que avaliou a prevalência de infecção filarial e de parasitoses intestinais em escolares numa área endêmica de filariose e refletiu sobre a opção terapêutica utilizada no Brasil no tratamento coletivo para filariose. Ante a prevalência de 13,8% de filariose e 64,2% de parasitoses intestinais, corrobora-se a recomendação da Organização Mundial da Saúde de adição do albendazol ao tratamento da filariase linfática. O terceiro, sob o título “*Resposta alérgica na infecção filarial bancroftiana em crianças e adolescentes*”, analisou a hipersensibilidade imediata na infecção filarial. Foram estudados 60 indivíduos, entre crianças e adolescentes, alocadas nos seguintes grupos: I- com infecção filarial e sem doença alérgica; II- sem infecção filarial e com doença alérgica e III- sem infecção filarial e sem doença alérgica. Realizou-se a contagem de eosinófilos e IgE total, além de testes cutâneos de hipersensibilidade imediata para antígenos padronizados de ácaros, fungos, baratas e pelos de gato e cão, bem como dosagem séricas das citocinas IL-4 e IL-5. A avaliação da resposta humoral e celular no grupo com filariose linfática foi semelhante aos outros grupos do estudo. A baixa carga de microfilarémia e a semelhança da origem dos indivíduos de todos os grupos, com provável exposição prévia a outras infecções parasitárias, pode ter colaborado pela uniformidade de resposta imune entre os grupos. Identifica-se a necessidade do estudo de outras citocinas (IL-10, IFN- γ e TGF- β) para a melhor compreensão do fenômeno.

Palavras-chave: Alergia. Filariose linfática. Imunomodulação. Parasitoses intestinais

Abstract

The prevalence of helminth parasite infections has declined in developed countries and, on the other hand, in the past two to three decades has seen a significant increase in the prevalence of autoimmune diseases and allergic these regions. These remarks sparked a growing interest in studying the relationship between parasites and allergy based on the hypothesis that helminths may cause protection against the development of allergic diseases. However, the relationship between parasitic and allergic diseases remains unclear. Therefore we investigated the phenomenon of immunomodulation applied to human filariasis, dividing the study into three chapters. The first, entitled "*Immune response in lymphatic filariasis and possible impact on the allergic response*", consisted of a literature review on the behavior of the immune response to lymphatic filariasis, especially on the ability of the parasite to modulate the hosts immune system, making it tolerant for a long time. The review raises the possibility of a negative association between filarial infection and allergic response. The second, entitled "*Epidemiological evaluation of neglected diseases in children and adolescents in northeastern Brazil: lymphatic filariasis and intestinal parasites*", emerged from data screening of subjects. It is a cross-sectional study on 159 infants aged 5-18 years attending public schools, to assess the prevalence of filarial infection and intestinal parasitic infections in school-going children in a filariasis endemic area and reflect on the therapeutic option used in Brazil in public programs on treatment for filariasis. Considering the prevalence of 13.8% of filariasis and 64.2% of intestinal parasites, it supports the World Health Organization's recommendation on the addition of albendazole for the treatment of lymphatic filariasis. The third, entitled "*Allergic response in bancroftian filarial infection in children and adolescents*", aims to evaluate and compare the immediate hypersensitivity response in filarial infection. We studied 60 children and adolescents, divided into the following groups: I-filarial infection, without allergic disease; II-without filarial infection and with allergic disease and III- without filarial infection and without allergic disease. We determined the number of eosinophils and total IgE, and skin prick tests for standardized antigens of mites, molds, cockroaches and cats' and dogs' hair plus the dosage of serum cytokines IL-4 and IL-5. The profile of humoral and cellular responses in the LF group was similar in all groups studied. The low load of microfilaraemia and the similarity in the origin of subjects from all groups, with a probable previous exposure to other parasitic infections, may have collaborated for the uniformity of the immune response between the groups. Thus, it sounds reasonable to study the profile of other cytokines (IL-10, IFN- γ and TGF- β) to a better understanding of the LF immunomodulation phenomenon.

Key-words: Allergy. Immunomodulation. Intestinal parasitosis. Lymphatic filariasis.

Lista de Figuras e Tabelas

Artigo 2

Tabela 1	– Parasitoses intestinais em crianças e adolescentes com infecção filarial por ICT em Olinda, Pernambuco, 2009-2010.	86
Tabela 2	– Parasitoses intestinais em crianças e adolescentes escolares de Olinda, Pernambuco, 2009-2010.	87

Artigo 3

Tabela 1	– Características demográficas de crianças e adolescentes de área endêmica de filariose bancroftiana, distribuição em grupos quanto a infecção filarial e doença alérgica e dados comparativos entre contagem de eosinófilos periféricos e níveis de IgE Total. Recife-PE, 2009-2010.	108
Tabela 2	– Dados comparativos de hipersensibilidade a aeroalérgenos, entre crianças e adolescentes de área endêmica de filariose bancroftiana. Recife-PE, 2009-2010.	109
Tabela 3	– Estatística descritiva das médias, medianas, desvio-padrão e erro-padrão da produção de citocinas (IL-4 e IL-5) em culturas de sangue total sem estímulo (meio) e quando estimuladas por antígenos de <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> , PPD, e mitógenos (controle positivo) entre crianças e adolescentes de área endêmica de filariose bancroftiana. Recife-PE, 2009-2010.	110
Tabela 4	– Comparação das médias de produção de IL-5 com estímulo DPT (IL-5 DPT) entre os grupos. Recife-PE. 2009-2010.	111
Figura 1	– Valores de produção de IL-4 em cultura de sangue total sem estímulo (meio) e com estímulo de <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Dpt), PPD, e mitógenos (PMA) em crianças e adolescentes de área endêmica de filariose linfática distribuídos no Grupo I (com infecção filarial e sem alergia), Grupo II (com alergia e sem infecção filarial) e Grupo III (sem alergia e sem infecção filarial). Recife. 2009-2010	112

Figura 2	– Valores de produção de IL-5 em cultura de sangue total sem estímulo (meio) e com estímulo de <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Dpt), PPD, e mitógenos (PMA) em crianças e adolescentes de área endêmica de filariose linfática distribuídos no Grupo I (com infecção filarial e sem alergia), Grupo II (com alergia e sem infecção filarial) e Grupo III (sem alergia e sem infecção filarial). Recife. 2009-2010.	113
----------	---	-----

Material e Método

Fluxograma	– Seleção dos pacientes (Apêndice B)	121
Fluxograma	– Coleta de material biológico (Apêndice C)	122

Lista de Siglas e Abreviaturas

CPqAM	– Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães
DEC	– Dietilcarbamazina
DN	– Doenças Negligenciadas
DTP	– Antígeno de <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
ELISA	– <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FIOCRUZ	– Fundação Oswaldo Cruz
FL	– Filariose linfática
ICT	– Imunocromatografia
ICT-card	– Imunocromatografia – Cartão
IL-4	– Interleucina 4
IL-5	– Interleucina 5
MS	– Ministério da Saúde
OMS	– Organização Mundial de Saúde
PE	– Pernambuco
PGEFL	– Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática
PMA/Iono	– <i>Phorbol myristate acetate/ Ionomycin</i>
PNEFL	– Programa Nacional de Eliminação da Filariose Linfática
PPD	– <i>Purified Protein Derivative</i>
RMR	– Região Metropolitana do Recife
SDF	– Sinal da dança da filária
SRNF	– Serviço de Referência Nacional em Filariose
TCLE	– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
USG	– Ultrassonografia
WHO	– <i>World Health Organization</i>

Sumário

Capítulo 1	APRESENTAÇÃO	17
	Referências	22
Capítulo 2	REFERENCIAL TEÓRICO	24
	Referências	27
Capítulo 3	MATERIAL E MÉTODOS	30
	Referências	41
Capítulo 4	ARTIGO 1 - ARTIGO DE REVISÃO	44
	<i>Resposta imune na filariose bancroftiana e sua repercussão na resposta alérgica</i>	
	Resumo	46
	Abstract	47
	Introdução	48
	A hipótese de higiene	49
	Infecções parasitárias e alergia	51
	Relevância clínica	53
	A Filariose Linfática e reações imunes	55
	Conclusões	59
	Referências	60
Capítulo 5	RESULTADOS	68
	ARTIGO 2 – ARTIGO ORIGINAL	
	<i>Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais</i>	
	Resumo	71
	Abstract	72
	Introdução	73
	Métodos	75

	Resultados	77
	Discussão	79
	Referências	82
Capítulo 6	ARTIGO 3 – ARTIGO ORIGINAL	88
	<i>Resposta alérgica na infecção filarial bancroftiana em crianças e adolescentes</i>	
	Resumo	90
	Abstract	92
	Introdução	94
	Material e métodos	95
	Resultados	97
	Discussão	99
	Referências	102
Capítulo 7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	114
Capítulo 8	APÊNDICES	117
	Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	
	Apêndice B – Fluxograma de seleção dos pacientes	
	Apêndice C – Fluxograma de coleta de material biológico	
	Apêndice D – Questionário de Alergia	
Capítulo 9	ANEXOS	127
	Anexo A – Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa	
	Anexo B – Comprovante envio Artigo 2 para o “Jornal de Pediatria”	
	Anexo C – Instruções para o envio de material para publicação no “Jornal de Pediatria”	

CAPÍTULO 1



1 Apresentação

A prevalência de infecções helmínticas parasitárias tem declinado em países industrializados e, por outro lado, nas últimas duas a três décadas tem-se observado um significativo aumento na prevalência de doenças auto-imunes e alérgicas nessas regiões. Essas observações despertaram um crescente interesse no estudo da relação entre parasitoses e alergia com base na hipótese de que os helmintos possam causar proteção no desenvolvimento de doenças alérgicas.

Embora exista uma extensa literatura referente à relação entre infecções por geohelmintos e alergia, não há consenso se a associação é causal ou não, e, ainda não está claro se a infecção parasitária pode aumentar ^(1,2) ou reduzir ^(3,4) o risco de alergia em diferentes populações. Os achados ainda são conflitantes, com estudos epidemiológicos que evidenciam que os geohelmintos parecem reduzir o risco de alergia em áreas de alta prevalência da infecção enquanto parecem aumentar este risco em áreas de baixa prevalência^(5,6,7). As evidências dessa associação negativa são mais fortes no que diz respeito à associação inversa entre geohelmintos e asma ou atopia que com outros tipos de alergia⁽¹⁾. Isso é demonstrado em estudos de intervenção que evidenciam aumento na prevalência ou risco de atopia após o tratamento de crianças infectadas^(8,9).

É importante salientar que as infecções helmínticas e as doenças alérgicas são caracterizadas por apresentarem indução da resposta imune Th2 e produção elevada de IgE e com isso vários mecanismos têm sido postulados buscando explicar a associação negativa entre essas doenças. Além disso, tem sido demonstrado que parasitos induzem a um conjunto de mecanismos imunes regulatórios no organismo parasitado que facilitam a sobrevivência do parasito e causam um grande impacto na evolução da resposta imune à auto-antígenos, alérgenos, co-infecções e vacinas, o que poderá proporcionar redução de doenças alérgicas ^(10,11,12).

Na esquistossomose humana, a resposta imune da fase crônica é do tipo Th2 com elevados níveis de IL-4, IL-5 e IL-10 e redução dos níveis de IFN- γ ⁽¹³⁾. Durante a resposta imune Th2, a citocina IL-10 como apresenta uma característica anti-inflamatória pode ter a

capacidade de inibir a liberação de histamina e de outros mediadores que pode ser o mecanismo que contribua para a inibição da reatividade dos testes cutâneos na esquistossomose. Nesse sentido, o trabalho de Araújo *et al.* (2004) ⁽¹³⁾ ao avaliar a resposta imune de indivíduos asmáticos infectados com o *Schistosoma mansoni*, residentes em áreas endêmicas, comparados com indivíduos asmáticos não infectados, observou que após a estimulação *em culturas de células circulantes* com antígeno de *Dermatophagoides pteronyssinus*, houve uma produção maior de IL-10 nos asmáticos infectados em comparação com asmáticos não-infectados. Esses resultados demonstram que a influência da infecção helmíntica e, em particular, o *S. mansoni* na redução da atopia é causada pela modulação mediada predominantemente pela citocina IL-10.

Em uma área endêmica do Brasil, a reação de hipersensibilidade imediata e os níveis de IgE específicos a aeroalérgenos em presença de infecção por *Schistosoma mansoni* foram avaliados e identificou-se que a proporção de indivíduos com testes cutâneos positivos a pelo menos um dos sete aeroalérgenos testados era aproximadamente 5 vezes menor no grupo de pessoas infectada com este parasita (4,8% *versus* 24,3%)⁽¹⁴⁾.

Outro trabalho também realizado no Brasil através de desenho do tipo caso-controle estudou indivíduos asmáticos residentes em áreas com e sem infecção por *S. mansoni*, e foi verificado que houve uma resposta significativamente menor aos testes cutâneos nos asmáticos infectados do que naqueles de áreas não endêmicas ⁽¹⁵⁾. Adicionalmente, também foi demonstrado que pessoas infectadas por *S. mansoni* apresentaram uma evolução mais leve da asma quando comparados com asmáticos sem infecção⁽¹⁶⁾.

Com esse conhecimento sobre a doença esquistossomótica, e comparando com a infecção pela *Wuchereria bancrofti* que é uma infecção helmíntica crônica e também caracterizada pela longa permanência do parasito no hospedeiro é de se esperar que essa infecção tenha habilidade de desencadear respostas imunes protetoras após um longo tempo de exposição. Estudos realizados demonstram que na análise da resposta imune de indivíduos com infecção filarial patente (microfilarêmicos) houve redução da resposta proliferativa de linfócitos, menor produção de IFN- γ , porém com elevada produção de IL-4, IL-10 e anticorpos do tipo IgG4 ⁽¹⁷⁾. Dessa forma a infecção filarial também apresenta um perfil de resposta imune Th2.

Diante desse perfil de imunomodulação observado na infecção filarial sugere-se que possa haver associação entre essa infecção e alergia, embora, até o momento não haja dados consistentes na literatura a esse respeito. Dessa forma o tema central da presente tese foi investigar se o comportamento de imunomodulação descrito em indivíduos com infecção

filarial pode modificar a resposta alérgica bem como o padrão de produção de citocinas frente à estimulação com antígenos aeroalérgenos e mitógenos.

Em levantamento bibliográfico identificou-se lacunas no conhecimento no que concerne a essa relação de filariose e alergia e surgiram alguns questionamentos tais como: 1) Como se comporta a resposta de hipersensibilidade imediata em indivíduos (ou grupos) com infecção filarial, associados ou não com doença alérgica e quando comparados com indivíduos não infectados? 2) Qual é o perfil de produção de citocinas em grupos com infecção filarial, associados ou não com doença alérgica e como será a comparação com grupos não infectados?

Para responder a esses questionamentos foi construído um projeto de pesquisa intitulado “*Avaliação da produção de citocinas e respostas cutâneas a aeroalérgenos na Infecção filarial pela Wuchereria bancrofti*” que constitui a base da presente tese. O projeto além dos trâmites legais de avaliação por um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ Fiocruz-PE -CAAE 0069.0 095 000-06- ANEXO A) foi submetido à análise do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) e aprovado, sendo dessa forma financiado pelo Projeto Universal Processo N° 476336/2008-2. Essa etapa contou com a participação de pesquisadores do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães CPqAM/Fiocruz e de docentes da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Essa tese está inserida na Linha de Pesquisa de Clínica e Epidemiologia das afecções imuno-alérgicas e infecciosas do Programa de Pós-Graduação da Criança e do Adolescente e está estruturada em nove capítulos cujo primeiro consiste na apresentação e roteiro da tese. O segundo capítulo trata de um breve referencial teórico e o terceiro descreve os sujeitos e métodos utilizados para a construção de cada um dos três artigos apresentados.

O quarto capítulo é o primeiro artigo. É um artigo de revisão intitulado “*Resposta Imune na filariose bancroftiana e sua repercussão na resposta alérgica*”. Nele procedeu-se a uma revisão bibliográfica e a partir de conceitos baseados na “hipótese de higiene” associados ao conhecimento atual do comportamento imune de outras parasitoses como a esquistossomose e do perfil imunológico apresentado no indivíduo com infecção filarial, levanta-se a possibilidade de haver uma associação negativa da infecção filarial na resposta alérgica.

No quinto capítulo é apresentado o segundo artigo que leva o título: “*Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais*”. Os dados para essa publicação foram gerados a

partir da triagem de indivíduos de uma área endêmica de filariose para constituição da amostra do projeto da tese em pauta. Embora seus resultados não contemplem diretamente a resposta aos questionamentos anteriores, mas identifiquem em estudantes de uma população endêmica de filariose, a presença de enteroparasitoses (critério de exclusão do participante para a pesquisa) e sua associação com infecção filarial, refletem a coendemicidade das duas parasitoses assim corroborando com a recomendação da OMS da associação do albendazol com a dietilcabamazina no tratamento em massa, estratégia não adotada no Brasil. Esse artigo foi submetido para publicação no *Jornal de Pediatria* e está formatado segundo suas Normas (Anexo B e C).

Segue-se o sexto capítulo com a apresentação do terceiro artigo sob título “*Resposta alérgica na infecção filarial em crianças e adolescentes*”. O artigo trata de um estudo do tipo exploratório envolvendo crianças e adolescentes de área endêmica para filariose linfática e teve por objetivo avaliar a resposta alérgica na infecção filarial, comparando o perfil de eosinófilos periféricos, níveis de IgE Total, reação de hipersensibilidade imediata e níveis de citocina IL-4 e IL-5 em três grupos de indivíduos: Grupo I- Com infecção filarial e sem doença alérgica; Grupo II- Sem infecção filarial e com doença alérgica e o Grupo III- Sem infecção filarial e sem doença alérgica. A avaliação da resposta de hipersensibilidade imediata foi semelhante entre os grupos e a produção de citocinas IL-5 quando estimulada por *D. pteronyssinus* foi maior no grupo de alérgicos.

O sétimo capítulo traz as “*Considerações Finais*” onde, através do embasamento do conhecimento científico atual feito na revisão bibliográfica sugere-se a possibilidade de relação inversa entre filariose e atopia e, no entanto, os resultados e reflexões dos estudos iniciais trazidos através dos dois artigos originais não evidenciam diferenças de respostas imunes entre os grupos estudados.

O oitavo e nono capítulos são compostos respectivamente, por “Apêndices” e “Anexos” utilizados na execução do estudo e para publicação de seus resultados.

A tese se destina a obtenção do título de doutor em Saúde da Criança e do Adolescente pela aluna Ana Maria Aguiar dos Santos, orientanda de Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho.

Referências

1. Cooper, PJ. Intestinal worms and human allergy. *Parasite Immunol.* 2004; 26: 455–67.
2. Palmer LJ, Celedon JC, Weiss ST, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Méd.* 2002; 165: 1489-93.
3. Scrivener S, Yemaneberhan H, Zebenigus M, Tilahun D, Girma S, Ali S et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. *Lancet.* 2001; 358:1493-9.
4. Dagoye D, Bekele Z, Woldemichael K, Nida H, Yimam M, Hall A, et al. Wheezing, allergy, and parasite infection in children in urban and rural Ethiopia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1369-73.
5. Cooper PJ. Can intestinal helminth infections (geohelminths) affect the development and expression of asthma and allergic diseases? *Clin Exp Immunol* 2002;128: 398–404.
6. Obihara CC, Beyers N, Gie RP, Hoekstra MO, Fincham JE, Marais BJ. et al. Respiratory atopic disease, *Ascaris*-immunoglobulin E and tuberculin testing in urban South African children. *Clin Exp Allergy.* 2006, 36: 640-8.
7. Araújo JI, De Carvalho EM. Human schistosomiasis decreases immune responses to allergen and clinical manifestations of asthma. *Chem Immunol J Allergy.* 2006, 90: 29-44.
8. Lych NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J. Allergy Clin Immunol.* 1993;92: 404-11.
9. Van Den Biggelaar AH., Rodrigues LC., Van Ree R, Van Der Zee JS, Hoeksma-Kruize YC et al. Long-term treatment of intestinal helminths increases mite skin-test reactivity in Gabonese schoolchildren. *J. Infect. Dis.* 2004,189:892-900.
10. Yazdanbakhsh, M., Van Den Biggelaar A., Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol.* 2001; 22: 372-7.

- 11.Maizels, R.M., and M. Yazdanbakhsh. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. Nat. Rev. Immunol.2003, 3:733–44.
- 12.Cooper PJ, Barretos MI, Rodrigues, LC. 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. 2006; 79: 203–18.
- 13.Araújo MI, Hoppe BS, Medeiros MJR, Carvalho EM. *Schistosoma mansoni* Infection Modulates the Immune Response against Allergic and Auto-immune Diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99(Suppl. I): 27-32.
- 14.Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-AL, Sole D et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. Int Arch Allergy Immunol. 2000;123: 145-8.
- 15.Medeiros MJR, Almeida MC, Figueiredo JP, Atta AM, Mendes CM, Araújo MI et al. Low frequency of positive skin test in asthmatic patients infected with *Schistosoma mansoni* exposed to high levels of mite allergens. Pediatr Allergy Immunol. 2004; 15: 142-7.
- 16.Medeiros JrM, Almeida MC, Matos MA Araujo MI, Cruz AA, Atta A.M. et al., *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma, J Allergy Clin Immunol 2003, 111:947-51.
- 17.Nutman, T.B and Kumaraswami, V. Regulation of the immune response in lymphatic filariasis: perspectives on acute and chronic infection with *Wuchereria bancrofti* in South India. Parasit Immunol. 2001, 28: 389-99.

CAPÍTULO 2



2 Referencial Teórico

As populações de países tropicais e subtropicais têm por longo tempo sido submetidas ao risco da filariose linfática (FL). Essa doença crônica parasitária constitui um dos grandes problemas de saúde pública e de significativo impacto socioeconômico sendo atualmente endêmica em 80 países do mundo⁽¹⁸⁻²⁰⁾. A FL é responsável por sérios quadros de incapacitação, desfiguração de extremidades e de genitália responsáveis pela perda de produtividade de trabalho, elevados custos no tratamento e estigma social acentuado⁽²¹⁾.

Uma importante característica da FL em residentes de uma área endêmica é o fato de que apesar de repetidas e longa exposição às larvas infectantes, a maioria dos indivíduos não apresentam doença clínica. Isso contrasta com o caso de não-endêmicos que são expostos a áreas de elevados níveis de transmissão e frequentemente apresentavam quadros de linfangite e outras manifestações clínicas de FL⁽²²⁾.

Nos últimos anos uma vasta produção científica tem demonstrado que devido à capacidade do nematóide filarial modular a resposta imune do hospedeiro esse se torna tolerante ao parasito por longo tempo⁽²²⁻²⁶⁾.

No homem as modificações no sistema imune parecem já iniciar antes do nascimento. Crianças nascidas de mães com infecção filarial apresentam um desvio no sistema imune favorecendo ao antígeno filarial e consequentemente à infecção nesse grupo^(23,24,25). As características imunológicas típicas são a menor proliferação de células T do cordão venoso umbilical, maior produção de citocina regulatória IL-10 (algumas vezes, mas nem sempre acompanhadas por outras citocinas Th2) como também por maiores níveis de IgG4. Acredita-se que o sistema imune já tem uma predisposição intra-útero para desencadear uma menor resposta inflamatória à filária, levando a uma menor manifestação da doença e ao mesmo tempo permitindo maiores taxas de infecção e maior carga parasitária⁽²⁶⁾.

Está claro que uma vez o organismo tenha efetivamente invadido o hospedeiro e produzido microfilárias, seja interessante para ambos- parasito e hospedeiro - limitar a resposta imune. Esse fato é evidenciado na expressão de doença clínica que ocorre quando a

reação inflamatória não é limitada: os autores levantam a hipótese de que a liberação excessiva de mediadores pró-inflamatórios leva à alteração do vaso linfático^(27,28) e estabelecimento de patologia linfática. Várias observações têm levado à conclusão que as respostas Th1 e Th2 contribuem para a inflamação e produção de mecanismos efetores eficientes que limitem a carga parasitária, mas também ocasionando dano tecidual. Diante disso, a supressão dessas respostas deve ser alcançada para que ocorram altas cargas parasitárias associadas a baixo grau de dano ao hospedeiro⁽²⁶⁾.

Assim, indivíduos com FL com altas cargas parasitárias têm reduzida resposta de célula T antígeno-específica, em particular baixa produção das citocinas IFN- γ e IL-5⁽²⁹⁾. Por outro lado, existe bastante evidência do aumento da produção de IL-10 e TGF- β pelas células de pacientes microfilarêmicos^(30,31). Também, a reconhecida ausência de resposta proliferativa de células T a antígenos filariais é evidenciada não pela ausência ou anergia dessas células, mas devido à regulação, uma vez que a neutralização *in vitro* de citocinas regulatórias IL-10 e/ou TGF- β em culturas de células de pacientes com filariose foi capaz de restaurar a proliferação^(30,32,33). A restauração *in vitro* da proliferação antígeno-específica e redução da produção de IL-10 também foi observada após a quimioterapia antifilarial tanto na oncocercose⁽³⁴⁾ quanto na FL⁽³⁵⁾. Assim, existe uma clara correlação de IL-10 (e/ou TGF- β) com altas cargas de microfilárias e relativamente pouca doença, e com alta produção de IL-5 e/ou IFN- γ e função efetora pró-inflamatória resultando em baixa carga de microfilárias, mas associada à doença filarial⁽²⁹⁻³¹⁾.

A imunomodulação produzida por nematóides filariais predispõe a alterações da resposta imune a outros antígenos não-filariais. Assim, a infecção filarial pode ter profunda influência na reação imune contra outros antígenos, sejam eles vacinas, alérgenos ambientais ou outras infecções⁽³¹⁾.

Nas últimas décadas muita atenção tem sido dedicada à “Hipótese da Higiene” – a aparente relação inversa entre a presença de infecções no início da vida e subsequente desenvolvimento de asma e atopia, e nesse aspecto a presença de infecções parasitárias tem sido considerada⁽³⁶⁾. Tanto infecções helmínticas quanto alergias são associadas a elevados níveis de IgE, eosinófilos, mastócitos e células CD4+ que preferencialmente secretam citocinas Th2 do tipo, IL-4, IL-5 e IL-13^(36,37).

Particularmente nos países em desenvolvimento, programas de erradicação sistemática de infecções parasitárias têm sido introduzidos em muitas áreas. Embora a erradicação seja indubitavelmente benéfica a muitos aspectos de saúde pública e individual, a hipótese que

infecção parasitária possa proteger contra doença alérgica aumenta a possibilidade que a erradicação possa aumentar a asma e outras manifestações de alergia. Por essa razão, e também porque qualquer efeito protetor deve fornecer subsídios na patogênese e possíveis oportunidades terapêuticas na doença alérgica, é importante estabelecer se infecções parasitárias e asma estão de fato relacionadas⁽³⁸⁾.

Se essa resposta é uma manifestação generalizável e aplicável a outras infecções por helmintos, essas observações requerem estudos adicionais em filariose humana a fim de que se confirme ou negue relação semelhante entre filariose e alergia⁽²⁶⁾.

Não existem dados publicados quanto à associação entre infecções filariais e alergia⁽³⁹⁾ com exceção da eosinofilia pulmonar tropical que tem sido descrita em áreas endêmicas de infecção filarial, exibindo manifestações clínicas semelhantes à asma⁽⁴⁰⁾. Essa manifestação, contudo, ocorre em indivíduos que são hipersensíveis a antígenos filariais e é mais comum naqueles esporadicamente expostos e frequentemente amicrofilarêmicos⁽⁴¹⁾.

Levando-se em conta a adesão do Brasil, e, particularmente a região Metropolitana do Recife no Plano Global de Eliminação da Filariose Linfática lançado pela Organização Mundial de Saúde com vistas à eliminação da FL, esse estudo será útil para o entendimento de questões subseqüentes ao tratamento coletivo instituído na população envolvida. Além disso, também trará contribuição no sentido de avaliar se a queda de prevalência da infecção filarial em uma área endêmica poderá influenciar as manifestações alérgicas nessa população.

Referências

18. World Health Organization. Lymphatic filariasis. Wkly Epidemiol Rec. 2001;76: 149-54.
19. Zagaria N, Savioli L. Elimination of lymphatic filariasis: a public-health challenge. Ann Trop Med Parasitol. 2002;96 (Supl. 2):S3–S13.
20. Molyneux D. Lymphatic filariasis (elephantiasis) elimination: a public health success and development opportunity. Filaria J. 2003;2: 13.
21. World Health Organization, 2004. The World Health Report 2004 – Changing History. Geneva: World Health Organization.
22. Kazura J.M. Resistance to infection with lymphatic-dwelling filarial parasites. In: Nutman TB. (Ed.) Lymphatic Filariasis, Bethesda: Imperial College Press, 2000, Chap.4, Tropical Medicine: Science and Practice.p. 93.

23. Steel C, Guinea A, McCarthy JS, Ottesen EA. Long-term effect of prenatal exposure to maternal microfilaraemia on immune responsiveness to filarial parasite antigens. *Lancet*. 1994; 343: 890-3.
24. Pit DSS, Polderman AM, Schulz-Key H, Soboslay PT. Prenatal immune priming with helminth infections: parasite-specific cellular reactivity and Th1 and Th2 cytokine responses in neonates. *Allergy* 2000; 55: 732–9.
25. Malhotra I, Ouma JH, Wamachi A, Kioko J, Mungai P, Njzovu M et al.. Influence of maternal filariasis on childhood infection and immunity to *Wuchereria bancrofti* in Kenya. *Infect Immun*.2003; 71: 5231–7.
26. Hoerauf A, Satoguina J, Saeftel M, Specht S. Immunomodulation by filarial nematodes. *Parasite Immunol*.2005;27 (10-11):417–29.
27. Dreyer G, Noroes J, Figueredo-Silva J, Piessens, WF. Pathogenesis of lymphatic disease in bancroftian filariasis: a clinical perspective. *Parasitol Today*. 2000; 16: 544-8.
28. Witt C & Ottesen EA. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. *Trop Med Int Health* 2001; 6: 582–606.
29. Sartono E, Kruize YC, Kurniawan A, Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Depression of antigen-specific interleukin 5 and interferon-gamma responses in human lymphatic filariasis as a function of clinical status and age. *J Infect Dis*.1997; 175: 1276–80.
30. King CL, Mahanty S, Kumaraswami V, Abrams JS, Regunathan J, Jayaraman K et al. Cytokine control of parasite-specific anergy in human lymphatic filariasis. Preferential induction of a regulatory T-helper type 2 lymphocyte subset. *J Clin Invest* 1993; 92: 1667–73.
31. Mahanty S & Nutman TB. Immunoregulation in human lymphatic filariasis: the role of interleukin 10. *Parasite Immunol*.1995; 17: 385-92.
32. Doetze A, Satoguina J, Burchard G, Rau T, Lölliger C, Fleischer B et al. Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in generalized onchocerciasis is mediated by Th3/Tr1-type cytokines IL-10 and TGF beta but not by a Th1 to Th2 shift. *Int Immunol*. 2000; 12: 623–30.

33. Cooper PJ, Mancero T, Espinel M, Sandoval C, Lovato R, Guderian RH et al. Early human infection with *Onchocerca volvulus* is associated with an enhanced parasite specific cellular immune response. J Infect Dis. 2001; 183: 1662– 8.
34. Henry NL, Law M, Nutman TB, Klion AD. Onchocerciasis in a nonendemic population: clinical and immunologic assessment before treatment and at the time of presumed cure. J Infect Dis. 2001; 183: 512–6.
35. Yazdanbakhsh, M., Van Den Biggelaar A., Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. Trends Immunol. 2001; 22: 372-7.
36. Maizels RM, Bundy DA, Selkirk ME., Smith DF, Anderson RM. Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. Nature.1993; 365: 797-805.
37. Holt PG, Macaubas C, Stumbles PA, Sly PD. The role of allergy in the development of asthma. Nature 1999. 402: B12-B17 e disponível em: http://publishing.eur.nl/ir/repub/asset/6749/050420_Bernsen-Roos%20bw23-2B.pdf Acesso em: 15 maio 2008.
38. Leonardi-Bee JO; Pritchard D; Britton J and the parasites in asthma collaboration. Asthma and Current Intestinal Parasite Infection Systematic Review and Meta-Analysis. Am J Respir Crit Care Méd. 2006, 174: 514-23.
39. Wahyuni S. Helminth infections, allergic disorders and immune responses: studies in Indonesia. 2006. Thesis (doctoral) - Faculty of Medicine, Leiden University Medical Center, Leiden University, Leiden, 2006. Disponível on-line: <<http://hdl.handle.net/1887/4986>>. Acesso em: 18 maio 2008.
40. Ottesen EA. and Nutman TB. Tropical pulmonary eosinophilia. Annu Rev Med.1992; 43:417- 24.
41. Ong RK. and Doyle RL.Tropical pulmonary eosinophilia. Chest.1998; 113: 1673-9.

CAPÍTULO 3



3 Material e Métodos

Artigo 1: *Resposta imune na filariose bancroftiana e sua repercussão na resposta alérgica*

O primeiro artigo consiste numa revisão da literatura sobre a relação entre infecções parasitárias e doenças alérgicas. A partir da “Hipótese de Higiene” é feita uma descrição da base imunológica dessa teoria e os achados de correlação negativa entre várias infecções helmínticas e o reduzido risco de atopia. Uma revisão do perfil de resposta imune apresentado na infecção filarial linfática, frente ao conhecimento da infecção pelo *Schistosoma mansoni* sugere a possibilidade de um papel imunomodulador dessa parasitose levando a uma proteção de atopia.

A revisão bibliográfica foi fundamentada em consulta as bases de dados LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe em Saúde), Scielo (Scientific Electronic Library Online), MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online - Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica), banco de teses da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e livros sobre o tema. Foram incluídos no estudo periódicos nacionais e internacionais publicados em português, inglês e espanhol, utilizando-se os descritores: alergia, atopia, citocina, filariose linfática, imunomodulação, parasitose intestinal e testes cutâneos.

Artigo 2: *Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais*

No segundo artigo, já enviado para a publicação no Jornal de Pediatria (Anexo B), os dados utilizados foram gerados a partir da triagem de estudantes do bairro de Sapucaia da rede municipal de Olinda-PE, um dos municípios da região metropolitana do Recife (RMR) endêmicos para filariose linfática⁽⁴²⁾. A referida área foi selecionada porque na ocasião estava sendo avaliada a prevalência de infecção filarial para definição do tratamento em massa a ser adotado no plano de controle e eliminação da filariose linfática pela Secretaria de Saúde local.

O estudo foi do tipo transversal, com a população constituída por estudantes na faixa etária de cinco a 18 anos de idade, matriculados em escolas públicas do bairro de Sapucaia, no período de 2009 a 2010. A Secretaria de Educação forneceu a listagem de todos os alunos matriculados no bairro na rede do município, sendo cadastrados 508 pessoas no estudo.

A amostra foi calculada tendo por universo 508 estudantes, estimando-se uma prevalência de 1,1% de microfilaremia para o município, um design effect = 1,0 e um erro padrão de 1,6%, um intervalo de confiança de 95%, obtendo-se $n = 124$. Considerando-se as possíveis perdas, calculou-se um número total de 149 escolares.

Como estratégia de captação dos casos foram realizadas palestras de esclarecimento e sensibilização aos professores, pais e alunos. Através dos professores das escolas foram encaminhados para os pais os potes para coleta de fezes e comunicado as datas e locais de coleta para investigação da infecção filarial e recebimento das fezes. As coletas foram realizadas na comunidade e os alunos elegíveis que espontaneamente procuraram o atendimento foram inseridos na pesquisa.

Teve-se como critérios de inclusão a faixa etária estabelecida e para atingir o objetivo de descrever a ocorrência das parasitoses intestinais e da infecção filarial nos escolares e, somente após a concordância e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A) procedeu-se a investigação das duas parasitoses. Para o diagnóstico de filariose foi realizada a coleta de sangue venoso, no horário entre 23:00h e 1:00h, respeitando-se o horário de periodicidade noturna na RMR⁽⁴³⁾ e procedeu-se o teste rápido de imunocromatográfica (ICT Diagnostics, Binax NOW[®]) que utiliza anticorpos monoclonais específicos e policlonais⁽⁴⁴⁾ e a filtração em membrana de policarbonato⁽⁴⁵⁾.

Para investigação dos parasitos intestinais foram analisadas três amostras de fezes, coletadas em diferentes dias, conservadas em formaldeído a 10%. A análise de cada amostra foi realizada pelo método de Hoffmann, Pons e Janer⁽⁴⁶⁾.

A entrada e validação dos dados foram feitas pelo programa EpiInfo versão 6.04d, com dupla entrada e as diferenças identificadas corrigidas. Para análise estatística descritiva (média e distribuição de frequências) utilizou-se a versão 7 deste programa.

Artigo 3: Resposta alérgica na infecção filarial bancroftiana em crianças e adolescentes

Área de Estudo:

O estudo foi desenvolvido na Região Metropolitana do Recife (RMR) - área endêmica de filariose linfática.

Tipo de estudo:

Estudo do tipo exploratório, no qual se realiza a comparação dos perfis de resposta imune celular e de hipersensibilidade imediata entre os diferentes grupos.

Grupos de estudo:

A distribuição dos participantes em cada grupo de estudo foi estabelecida de acordo com a presença ou não de infecção filarial bem como com a associação ou não de algumas das doenças alérgicas: asma e/ou rinite e/ou dermatite tópica. Dessa forma foram constituídos os três grupos de estudo:

Grupo I- Crianças e adolescentes com infecção filarial e sem doença alérgica.

Grupo II- Crianças e adolescentes sem infecção filarial e com doença alérgica

Grupo III- Crianças e adolescentes sem infecção filarial e sem doença alérgica

Amostra do estudo:

Tomando por base a frequência de positividade em testes cutâneos para aeroalérgenos encontrados em asmáticos e assintomáticos segundo Godinho et al. 2003⁽⁴⁷⁾ realizou-se o cálculo do tamanho de amostra suficiente para detectar diferenças entre os grupos, conforme estimativas feitas utilizando programa STATA 9.1.

Para a comparação de proporções entre os grupos quanto ao resultado de testes cutâneos para aeroalérgenos, admitindo-se uma proporção de 15% de positividade no grupo não-asmático e de 80% de positividade no grupo asmático, um valor de $\alpha=0,05$ (bicaudal), um poder = 90% e uma razão (grupo1/grupo2) = 1, o tamanho da amostra requerido em cada grupo seria igual a 14.

Foi estudada uma amostra composta por 20 participantes em cada grupo, ou seja, um total de 60 indivíduos.

Recrutamento dos participantes do estudo:

Participaram do estudo crianças e adolescentes com idade inferior a 19 anos, de ambos os sexos, oriundos de municípios endêmicos de filariose linfática da RMR (Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda).

O recrutamento e seleção dos casos foram feitos a partir da triagem de estudantes da rede municipal de Olinda-PE conforme descrição anterior do artigo 2 e por pacientes de livre demanda do ambulatório do Serviço de Referência Nacional em Filariose (SRNF) do CPqAM que realizavam investigação para infecção filarial.

Todos os pais ou responsáveis e os sujeitos da pesquisa assinaram previamente o TCLE (Apêndice A). Todos os sujeitos da pesquisa com infecção filarial foram tratados com

dietilcarbamazina (DEC) e aqueles com parasitoses intestinais receberam tratamento específico.

Critérios de exclusão:

Os potenciais participantes foram submetidos a um fluxograma de avaliação clínico-laboratorial (Apêndice B e C) através do qual foram excluídos do estudo ou incluídos e selecionados para o grupo do qual participaram.

Foram excluídos definitivamente do estudo os indivíduos que se enquadraram em algumas das condições abaixo:

- a) Uso de droga específica anti-filarial (DEC) nos últimos 24 meses;
- b) Uso de qualquer corticosteróide oral nos últimos 30 dias;
- c) Uso de anti-histamínico nos últimos 10 dias;
- d) Uso de qualquer anti-helmíntico nos últimos 30 dias;
- e) Apresente positividade para helmintos intestinais (*Ascaris lumbricoides*, *Ancilostomatidae*, *Trichuris trichiura*, *Schistosoma mansoni* e *Strongyloides stercoralis*). Para tal, foram coletadas em diferentes dias, três amostras de fezes frescas, conservadas em formaldeído a 10% e examinadas microscopicamente (100x). Em cada amostra foram realizados os métodos de Hoffmann, Pons e Janer⁽⁴⁶⁾. Considerou-se como fator de exclusão a positividade em qualquer uma das amostras.

Critério de inclusão e seleção do grupo participante:

Através de investigação clínico-laboratorial foram incluídos e distribuídos em cada um dos grupos de acordo com a investigação de infecção filarial e de doença alérgica:

Investigação de infecção filarial:

Para a definição dos participantes da pesquisa como portadores ou não de infecção filarial, os mesmos foram submetidos à avaliação através da pesquisa de microfilária, pesquisa antigênica e identificação de vermes adultos, através das técnicas abaixo discriminadas:

Foram considerados como:

- Portador de infecção filarial: criança ou adolescente que seja microfilarêmico identificado pela técnica de filtração em membrana de polycarbonato⁽⁴⁸⁾.
- Não-portador de infecção filarial: criança ou adolescente no qual não se identificou qualquer microfilária através da técnica filtração em membrana de polycarbonato e que também tenha pesquisa antigênica negativa pelas técnicas de

ICT card⁽⁴⁹⁾ e ELISA⁽⁵⁰⁾, bem como seja negativo para vermes adultos pela ultrassonografia.

1) Pesquisa de microfilária:

Considerou-se como microfilarêmico positivo a identificação de uma (1) ou mais microfilárias na microscopia óptica e negativo a ausência de microfilárias.

Técnica de Filtração em membrana de polycarbonato (Filtração Noturna):

O teste diagnóstico foi realizado no SRNF/CPqAM/Fiocruz. É uma técnica com grande sensibilidade para o diagnóstico de infecção filarial e um método também quantitativo.

Através da punção venosa, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis, foi obtido 10ml de amostra de sangue venoso de cada participante do estudo, coletado em tubo com EDTA como anticoagulante. O sangue foi coletado no horário noturno entre 23 horas e 1 hora, respeitando-se a periodicidade noturna da *W. bancrofti* ⁽⁴³⁾.

A pesquisa e quantificação da microfilaremia circulantes foram realizadas pela técnica de filtração em membrana de polycarbonato com 3 µm de poros ⁽⁴⁸⁾. No primeiro momento foi filtrado 1ml do volume dos 10ml para a pesquisa e quantificação da microfilaremia. Nos casos dos exames negativos em 1 ml, foram filtrados os 9 ml restantes para confirmação ou não da negatividade ⁽⁵¹⁾. Após a fixação e coloração pela Hematoxilina de Carazzi se procedeu às leituras das membranas no microscópio óptico com utilização de um aumento de 160X.

Considerou-se como microfilarêmico positivo a identificação de uma (1) ou mais microfilárias na microscopia óptica e negativo a ausência de microfilárias. Nos indivíduos microfilarêmicos foi feita a quantificação de microfilárias para estimativa da carga parasitária, utilizando-se como unidade de medida o número de microfilárias/ml.

2) Pesquisa filarial antigênica:

Os indivíduos nos quais não foram detectadas microfilárias pela técnica de Filtração em membrana de polycarbonato foram também submetidos à pesquisa filarial antigênica.

A amostra biológica foi coletada através da punção venosa (3ml de sangue venoso), utilizando-se seringas e agulhas descartáveis, em tubo seco para obtenção de soro. As amostras sorológicas foram então separadas, aliquotadas e guardadas a -20oC no banco de amostras sorológicas do CPqAM, até o momento do processamento para pesquisa do antígeno circulante pelo kit do Og4C3-ELISA ⁽⁵⁰⁾ e cartão ICT ⁽⁴⁹⁾.

O ICT card test (Teste de imunocromatografia rápida) versão sangue total ou soro (Binax, NOW) foi utilizado de acordo com as normas do fabricante. O teste utiliza um anticorpo policlonal e um anticorpo monoclonal (AD12) que reconhecem antígeno filarial no sangue ou soro de indivíduos infectados. Utilizando uma pipeta automática é aplicado 100 µl

de sangue de cada indivíduo na região do cartão indicada pelo fabricante. Depois de decorridos cerca de 30 segundos o cartão é fechado e espera-se que o soro passe a fluir através da fita de papel de nitrocelulose presente no cartão, efetuando-se a leitura após 10 minutos. Caso positivo o antígeno da *W. bancrofti* será imobilizado pelo monoclonal AD12 presente na fita de nitrocelulose, apresentando-se em formato de uma barra cor de rosa.

O teste será considerado como positivo, quando duas linhas foram vistas na área da janela do cartão, e negativo, se somente a linha controle for visualizada.

A técnica de Og4C3 tem como princípio a detecção de antígeno circulante filarial pela técnica imunoenzimática (ELISA)⁽⁵⁰⁾ utilizando um anticorpo monoclonal da classe das imunoglobulinas IgM, produzido contra antígenos de um parasita bovino, a *Onchocerca gibsoni*. A técnica permite a quantificação de antígenos de *W. bancrofti* no soro, plasma e líquido hidrocélico, não apresentando reação cruzada com infecções por outros helmintos⁽⁵¹⁾.

A técnica de Og4C3 - ELISA foi realizada de acordo com as informações do fabricante (JCU Tropical Biotechnology Pty Ltd, James Cook University of North Queensland, Austrália).

Na interpretação dos resultados o ponto de corte utilizado foi o sugerido pelo fabricante que consiste em considerar os resultados positivos as amostras com densidades ópticas (D.O) iguais ou superiores ao padrão de número 3.

3) Identificação de vermes adultos filariais:

Os indivíduos nos quais não foram detectadas microfilárias pelas técnicas de Filtração em membrana de policarbonato foram também submetidos à ultrassonografia (USG) para a pesquisa de “ninhos” de vermes adultos vivos apresentando movimentos característicos denominado de “Sinal da Dança da Filária” (SDF)⁽⁵²⁾. Em ambos os sexos foram investigados através do ultrassom, os membros inferiores, superiores e linfonodos (axilares, crurais e inguinais). No sexo masculino foi investigada com maior detalhe, a bolsa escrotal e no sexo feminino, as mamas^(28,51,52).

Os exames foram realizados pelo mesmo profissional radiologista com experiência na realização da técnica e foi considerado como positivo a identificação de qualquer “Sinal da dança da filaria” (SDF) sugestivo de vermes adultos vivos e a ausência de SDF foi considerado como negativo.

Investigação de doença alérgica

Para a definição dos participantes da pesquisa como portadores ou não das doenças alérgicas (asma, rinite e dermatite) e alocação em um dos quatro grupos do estudo, e

utilizando-se os critérios clínicos abaixo, foi construído e aplicado um questionário padrão (Apêndice D)

1) Asma: a definição de asma foi estabelecida segundo a IV Diretrizes Brasileiras para o Manejo da Asma⁽⁵⁵⁾ e definiu-se como asmático aquele que apresentar:

- a) Um ou mais dos seguintes sintomas: dispnéia, tosse crônica, sibilância, aperto no peito ou desconforto torácico, particularmente à noite ou nas primeiras horas da manhã.
- b) Sintomas episódicos
- c) Melhora espontânea ou pelo uso de medicações específicas para asma (broncodilatadores, antiinflamatórios esteróides).
- d) Variabilidade sazonal dos sintomas
- e) História familiar positiva para asma ou atopia
- f) Outros diagnósticos alternativos excluídos.

Foram mantidos no grupo os considerados como asmáticos e que apresentaram sintomas nos últimos 12 meses.

2) Rinite alérgica: o diagnóstico de rinite será estabelecido por critério clínico com base no II Consenso Brasileiro sobre Rinites de 2006⁽⁵⁶⁾. Foi definido como rinite alérgica aquele que apresentou um ou mais dos seguintes sintomas:

- a) Congestão nasal
- b) Rinorréia – (coriza clara e abundante)
- c) Espirros em salva
- d) Prurido nasal e/ou no palato e nos olhos
- e) Prurido e lacrimejamento ocular

3) Dermatite: o diagnóstico de dermatite alérgica foi estabelecido por critério clínico com base no Guia Prático para o Manejo de Dermatite Atópica de

especialistas em alergologia ⁽⁵⁷⁾. Será definido como dermatite atópica a presença de prurido intenso e lesões eczematosas de caráter crônico e recidivante.

Coleta de dados:

Uma vez definidos os 20 participantes de cada grupo de estudo, todos eles foram submetidos à avaliação da resposta atópica e avaliação da resposta imune celular.

Nessa etapa foi coletado, no mesmo momento, através da punção venosa, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis, o volume total de sangue necessário para a realização das técnicas abaixo detalhadas:

Avaliação da resposta atópica:

1) Teste cutâneo (Skin-prick tests- SPT)

Utilizado para testar a hipersensibilidade imediata com extratos alergênicos mais frequentes na área de estudo e um controle positivo com histamina a 1%.

Foram utilizados para o teste cutâneo os seguintes extratos antigênicos produzidos pela FDA ALLERGENIC: Antígenos de ácaros (*Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides farinae* e *Dermatophagoides pteronyssinus*); Antígenos de fungos (*Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum* (var. *crhysogenum*); Antígeno de inseto (*Blatella germânica* e *Periplaneta americana*) e Pelo de gato e de cão.

O teste da FDA ALLERGENIC utiliza formulações de extratos alergênicos com 50% de glicerina e 0,4% de fenol. A concentração de proteínas do extrato alergênico é determinada por dosagem pelo método de Kjeldahl e a unidade de padronização é PNU/ml, que equivale a 0,01µg/ml ⁽⁵⁸⁾.

A formulação é aplicada por pequena puntura, com lancetas - ALK LANCET ® - na pele do antebraço do paciente. A leitura se faz entre 15 e 20 minutos quando se avalia a formação de uma pápula no local. A unidade de medida é em milímetro (mm). Quando o diâmetro da circunferência da pápula observada for maior ou igual a 3mm do que a pápula formada com o controle é considerado positivo ^(59,60).

2) IgE total:

O teste é realizado em amostra de sangue. Foram colhidos 3ml em tubo seco que foi centrifugado (1500 xg/10min) e no soro foram verificados os níveis de IgE sérica total utilizando-se técnica de Imuno-CAP (Pharmacia, Suécia) ⁽⁶¹⁾.

Considerou-se como ponto de corte para avaliação estatística o valor > de 400 UI/dL, conforme ponto de corte estabelecido em nosso meio ⁽⁶²⁾.

3) Contagem de eosinófilos:

Para a realização dessa técnica foi necessário o volume de 2ml de sangue total coletado em tubo com EDTA como anticoagulante.

A contagem total de eosinófilos periféricos foi realizada pelo método direto em câmara de Neubauer⁽⁶³⁾. A contagem foi realizada em duplicata numa diluição de 1/20, isto é, 20µl de sangue venoso, coletado em EDTA dissódico (Etileno-diamino-tetracetato dissódico) e 380µl de solução diluente para contagem de eosinófilos à base de eosina a 1%, segundo a técnica de Pilot⁽⁶⁴⁾.

4) IgE específica

A dosagem de IgE específica em soro, foi realizada para os mesmos aeroalérgenos descritos no teste cutâneo, exceto para *Penicillium notatum* e *Periplaneta americana* sendo utilizado o método enzima imunoensaio Pharmacia UniCAP System (Pharmacia Upjohn Uppsala, Suécia)⁽⁶¹⁾ e considerou-se como positiva níveis de IgE específica $\geq 0,35$ UI/dL (classe 1)^(58,59)

Avaliação da resposta imune celular:

Na avaliação da resposta imune celular realizou-se a dosagem das citocinas IL-4 e IL-5 através de ELISA, de acordo com as recomendações do kit “Quantikine” imunoensaio humano (R & D systems), utilizando cultura de sangue total estimulado com *D. pteronyssinus*, PMA/Iono, PPD e não estimulado. O sobrenadante foi retirado após 120 horas para dosagem das citocinas IL-4 e IL-5. O sangue total (5 ml), coletado em tubo vacutainer com heparina, sem separação da camada mononuclear^(65,66), foi cultivado em meio RPMI-1640 contendo penicilina (100 U/ml) e estreptomicina (100 µg/ml). As placas de cultura foram estimuladas com PPD (10 ug/mL), DTP (10 ug/mL), PMA/Iono (50 ng/mL- phorpol myristate acetate; 1 ug/mL- ionomycin), além de ter um controle sem estímulo. As culturas foram então, incubadas a 37°C em estufa com 5% de CO₂ em atmosfera úmida e os sobrenadantes coletados em um tempo determinado após a realização de uma cinética e em seguida congelados a -70°C para determinação da produção de citocinas IL-4 e IL-5.

A unidade de medida da produção das citocinas (IL-4, IL-5) foi expressa em pg/mL. A dosagem das citocinas para cada estimulação de cada indivíduo foi realizada em duplicata e a média desses resultados foi colocada em uma curva (formada por diferentes padrões de concentrações) para visualizar a concentração de cada citocina, através do programa Microplate Manager 5.1.

Variáveis do estudo:

Infecção filarial:

- Positiva: criança ou adolescente portador de infecção filarial, ou seja, microfilarêmico confirmado pela técnica de filtração em membrana de polycarbonato.
- Negativa: criança ou adolescente no qual não se identificou qualquer microfilária através das técnicas de gota espessa e de filtração em membrana de polycarbonato e que também tenha pesquisa antigênica negativa pelos testes de ICT card e ELISA, bem como seja negativo para vermes adultos pela USG.

Presença de doença alérgica:

- Positiva: criança ou adolescente com algumas das doenças alérgicas: asma e/ou rinite e/ou dermatite confirmadas através de avaliação clínica e com sintomatologia positiva no último ano.
- Negativa: criança ou adolescente sem qualquer das doenças alérgicas: asma rinite ou dermatites afastadas através de avaliação clínica.

Resposta aos testes de hipersensibilidade:

a) Resposta ao teste cutâneo (princk test):

- Positivo: Quando a diferença entre o diâmetro da circunferência da pápula observada com o antígeno-teste e a pápula formada com o controle negativo for \geq que 3mm .
- Negativo: Quando a diferença entre o diâmetro da circunferência da pápula observada com o antígeno-teste e a pápula formada com o controle negativo for $<$ que 3mm.

Na análise comparativa entre os grupos, considerou-se como positivo, o indivíduo que tivesse o teste positivo a um ou mais um dos nove alérgenos testados e negativo aquele que não apresentou positividade a qualquer dos alérgenos. Procedeu-se então a análise comparativa entre a frequência de positividade ao teste em cada grupo.

b) Positividade à IgE específica

Considerando-se como positivo, os indivíduos que apresentaram níveis de IgE específica $\geq 0,35$ UI/dL (classe 1), avaliou-se a frequência de positividade ao exame em cada grupo e procedendo-se assim, a análise comparativa entre os grupos.

Níveis de IgE total:

Para a IgE sérica total foi calculada a frequência do número de indivíduos em cada grupo com níveis maiores que 400 UI/dL e realizada a comparação entre os grupos.

Dosagem de citocinas:

Foram analisadas as médias, medianas, desvio e erro-padrão de cada grupo estudado para um respectivo estímulo e sem estímulo e realizada a análise comparativa entre os grupos.

Análise estatística:

Os dados foram digitados em dupla entrada no programa EpiInfo versão 7. Os dados foram analisados fazendo uso da estatística descritiva por meio de distribuição de frequências, medidas de tendência central e dispersão e gráficos. Foi utilizado o teste de Kolmogorov - Smirnov. Para as comparações de médias dos IL4, IL5 e das outras variáveis quantitativas por grupos, foi utilizado o teste de Kruskal – Wallis seguido do teste de Mann – Whitney para comparações dois a dois. Para comparações entre variáveis qualitativas foram utilizados os testes: testes χ^2 e exato de Fisher. Em todos os testes foi adotado um nível de significância de 5%. Ou seja, as comparações são consideradas significantes se o p-valor < 0,05.

Referências

42. Rocha ACB, Marcondes M, Nunes JRV, Miranda T, Veiga J, Araújo P, et al. Programa de controle e eliminação da filariose linfática: uma parceria da secretaria de saúde de Olinda-PE, Brasil, com o Serviço de Referência Nacional em Filarioses. *Rev Patol Trop*. 2010;3:233-49.
43. Dreyer G, Pimentel A, Medeiros Z, Beliz F, Moura I, Coutinho A, de Andrade LD, Rocha A, da Silva LM and Piessens WF et al. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae impaired samples of capillary and venous blood from Recife, Brazil. *Trop. Med. Int. Hlth*. 1996; 1: 264–272.
44. GJ, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. *Parasitol Today*. 1997;10:401-4.
45. Dennis DT & Kaen BH. Isolation of microfilariae: report of a new method. *J Parasitol*. 1971;57:1146-7.
46. Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *J Pub in Health Trop and Med*. 1934;(9):283-98.
47. Godinho R, Lanza M, Godinho A, Rodrigues A, Assiz TM. Frequência de positividade em teste cutâneo para aeroalérgenos. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2003;69:824-8.

-
48. Dennis DT & Kaen BH. Isolation of microfilariae: report of a new method. *J Parasitol.* 1971;57:1146-7.
 49. Weil GJ, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: A rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. *Parasitol Today.* 1997;13:401-4.
 50. More SJ, Copeman DB. A highly specific and sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating antigen in bancroftian filariasis. *Trop Med Parasitol.* 1990;41:403-6.
 51. Rocha ACB. Métodos laboratoriais disponíveis para diagnóstico da filariose linfática. *Rev Bras Anal Clin.* 2002; 32: 265-70.
 52. Amaral F, Dreyer G, Figueredo JS, Norões J, Cavalcanti A, Samico SC, Santos A, Coutinho A. Adult worms detected by ultrasonography in human bancroftian filariasis. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50:753-7.
 53. Dreyer G, Brandão AC, Amaral F, Medeiros Z, Addiss D. Detection by ultrasound of living adult *Wuchereria bancrofti* in the female breast. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91: 95-6.
 54. Fox ML, Furness BW, Haser J, Brissau JM, Louis-Charles J, Wilson SF et al. Ultrasonographic examination of Haitian children with lymphatic filariasis: a longitudinal assesment in the contex of antifilarial drug treatment. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72: 642-8.
 55. IV Diretrizes Brasileiras para o Manejo da Asma. *J Bras Pneumol.* 2006;32 Suppl 7: S447-74.
 56. Solé D, Melo Júnior JFM, Weckx LLM, Rosario Filho NA. II Consenso Brasileiro sobre Rinites 2006. *Rev. bras. alerg. Imunopatol.* 2006; 29 (1): 29-58.
 57. Castro APM, Solé D, Rosário Filho NA, Jacob, CMA, Rizzo, MCAFV.; Fernandes, MFM et al. Guia Prático para o Manejo da Dermatite Atópica – opinião conjunta de especialistas em alergologia da Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia e da Sociedade Brasileira de Pediatria. *Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.* 2006;29:269-82.
 58. FDA ALLERGENIC, 2008. Disponível em:
site:http://www.fda.allergenic.com.br/produtos_fda_0.6htm, acessado em 23.09.08.

-
59. Høst A, Halken S. Practical aspects of allergy-testing. *Paediatr Respir Rev.* 2003; 4:312-8.
 60. Douglass JA, O’Hehir RE. 1. Diagnosis, treatment and prevention of allergic disease: the basics. *Med J Aust* 2006; 185: 228-33.
 61. Pharmacia CAP System The new generation of allergy testing. Disponível em http://immunocapinvitrsight.com/dia_templates?immunoCAP/PageNavRef. Acessado em 13.09.08
 62. Medeiros D, Silva AR, Rizzo JA, Motta ME, Oliveira FH, Sarinho ES. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. *J Pediatr (Rio J).* 2006;82(4):255-9.
 63. Lima AO, Soares JB, Greco JBJ, Gallizzi J, Cançado JR. Hematologia. In *Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação*. 8.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2001 p. 429-31.
 64. Pilot ML. Use of base on fluids for counting eosinophils: a method for staining eosinophilis. *Am J Clin Pathol.*1950;20:870-1.
 65. De Groot, et al. Direct stimulation of cytokines (IL-1B, TNFalpha, IFN- γ and GM-CSF) in whole blood in comparison with isolated PBMC stimulation. *Cytokine*, San Diego. 1992; 4:239 –248.
 66. Montenegro SML, et al. Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni the cross-regulatory role of interferon-gamma and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. *J Infect Dis* 1999;179:1502–1514.

CAPÍTULO 4



4. ARTIGO DE REVISÃO:

RESPOSTA IMUNE NA FILARIOSE BANCROFTIANA E SUA REPERCUSSÃO NA RESPOSTA ALÉRGICA

Autores: AGUIAR-SANTOS, Ana Maria¹
SARINHO, Emanuel S. C.²

- 1- *Doutoranda de Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)*
Pesquisadora do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães –CPqAM/Fiocruz-PE
- 2- *Professor associado da Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente e Coordenador da Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)*

RESUMO

Ao longo do século XX, observou-se um marcante aumento na incidência de muitas doenças inflamatórias crônicas (por exemplo, alergias, doenças auto-imunes, doenças inflamatórias intestinais) atribuíveis ao controle dos microorganismos no ambiente urbano com os quais os seres humanos coevoluíram, especialmente as crianças. Esta teoria da "hipótese da higiene" tem sido explicada por um desequilíbrio de subconjuntos de células T funcionais (T helper 1 e 2), que alteram o perfil de citocinas humano. Levando-se em conta o comportamento imune de outras parasitoses, tais como a ascaridíase e a esquistossomose, bem como do perfil imunológico apresentado no indivíduo com infecção filarial, a presente revisão levanta possibilidade de haver uma associação negativa da infecção filarial na resposta alérgica. A revisão bibliográfica foi fundamentada em consulta as bases de dados LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe em Saúde), Scielo (Scientific Electronic Library Online), MEDLINE (Literatura internacional em Ciências da Saúde), banco de teses da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e livros sobre o tema. Foram incluídos no estudo periódicos nacionais e internacionais publicados em português, inglês e espanhol, utilizando-se os descritores: alergia, atopia, citocina, filariose linfática, imunomodulação, parasitose intestinal e testes cutâneos.

Palavras-chave: Alergia. Citocinas. Filariose linfática. Imunomodulação. Helmintos. Testes cutâneos.

ABSTRACT

Throughout the twentieth century, there were striking increases in the incidences of many chronic inflammatory disorders (e.g. allergies, autoimmunity diseases, inflammatory bowel syndrome) attributable to depletion from the urban environment of the microorganisms with which humans co-evolved, specially the infants. This "hygiene hypothesis" theory has been explained by an imbalance of functional T cell subsets (T helper 1 and 2), altering the human cytokine profile. Taking into account the effects of ascaris and schistosoma parasites on human immune system as well as the immunological profile presented by subjects with filarial infection, this review raises the possibility of a negative association between filarial infection and allergic response. The authors conducted a review of the specialized literature in MEDLINE (International Literature on Health Sciences), LILACS (Latin-American and Caribbean Health Sciences Literature), SciELO (Scientific Electronic Library Online), and the thesis/dissertation database of CAPES (Brazilian Agency for Graduate Education) as well as specialized books. The article search in journals indexed in MEDLINE published in English, Portuguese and Spanish, adopted the following descriptors: allergy, atopy, cytokine, lymphatic filariasis, immunomodulation, intestinal parasites and skin tests.

Keywords: Allergy. Citokine. Filariasis. Helminthiasis. Immunomodulation. Skin prick tests.

Introdução

As infecções por geohelmintos e doenças alérgicas são grandes problemas de saúde pública e existem evidências que em países desenvolvidos elas estejam associadas. Embora exista uma extensa literatura sobre a relação entre a infecção por geohelmintos e alergia, há pouco consenso se essa associação é causal e, caso seja, se a associação aumenta ou reduz o risco de alergia. A explicação para os conflitantes achados dos estudos epidemiológicos é que os geohelmintos reduzem o risco de alergia em áreas de alta prevalência de infecção e aumentam esse risco em áreas de baixa prevalência. Infecções crônicas por geohelmintos são descritas como inversamente associadas com alergia e o tratamento anti-helmíntico pode aumentar a prevalência de alergia⁽¹⁾.

A observação do aumento na prevalência de doenças alérgicas bem como de doenças auto-imunes no mundo inteiro, particularmente nos países desenvolvidos onde ocorreu uma queda progressiva das doenças infecto-parasitária tem estimulado inúmeras pesquisas no sentido de investigar se existe associação causal entre os fatos e quais os possíveis mecanismos envolvidos. A compreensão desses mecanismos irá fornecer subsídios na patogênese e tem um grande potencial para o desenvolvimento de novas estratégias preventivas e terapêuticas no futuro para as doenças alérgicas.

Essa publicação tem como objetivo realizar uma revisão sobre o perfil de resposta imune apresentado na infecção filarial linfática e avaliar o papel imunomodulador dessa parasitose levando a uma proteção de atopia. Para tanto, foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa fundamentada em consulta as bases de dados LILACS (Literatura Latino-americana e do Caribe em Saúde), Scielo (Scientific Electronic Library Online), MEDLINE (Literatura internacional em Ciências da Saúde), banco de teses da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e livros sobre o tema. Foram incluídos no estudo periódicos nacionais e internacionais publicados em português, inglês e espanhol, utilizando-se os descritores: alergia, atopia, citocina, filariose linfática, imunomodulação, parasitose intestinal e testes cutâneos.

A “Hipótese de Higiene” e sua base imunológica

Nas últimas décadas muita atenção tem sido dedicada à hipótese de higiene – a aparente relação inversa entre a presença de infecções no início da vida e subsequente desenvolvimento de asma e atopia – inicialmente baseada em associações epidemiológicas, mas que ganharam com o tempo o reforço no campo imunológico. Essa hipótese é amplamente considerada como a mais plausível explicação para as mudanças temporais e diferenças regionais na prevalência da asma e atopia.

O que se tornou conhecido como “hipótese de higiene” teve origem numa pequena publicação de Strachan em 1989⁽²⁾. O autor estudou uma amostra nacional de 17.414 crianças britânicas nascidas durante uma semana de março de 1958 e as seguiu por 23 anos. Suas observações revelaram que a incidência de rinite alérgica foi inversamente proporcional ao número de crianças no domicílio e a de dermatite atópica no primeiro ano de vida estava relacionada ao número de crianças mais velhas no ambiente doméstico. Ele concluiu que no século anterior o declínio do tamanho das famílias, a melhoria das condições de moradia, e o melhor padrão pessoal de higiene reduziram a oportunidade de transmissão de infecção o que pode ter resultado em uma maior expansão da expressão clínica de doenças atópicas em populações mais ricas⁽²⁾.

Outro estudo, na Dinamarca, em uma coorte de sete anos, envolveu 812 pares de gêmeos e revelou que a incidência cumulativa de dermatite atópica aumentou de 0.06 para 0.12 entre os nascidos de 1965-1969 em relação aos nascidos de 1975-1979 respectivamente. Esse estudo forneceu evidências convincentes de um rápido aumento da frequência de doenças causadas por fatores exógenos⁽³⁾.

Posteriormente, também foi verificado que a incidência de doenças atópicas parece estar relacionada à idade de admissão em creches. Crianças de núcleo familiar pequeno admitidas em creches numa idade mais tardia (e menos expostas às infecções) apresentaram maior risco de doença atópica que aquelas que entraram em creches numa idade mais jovem. Esse comportamento não era o observado em famílias numerosas uma vez que elas são expostas a outras crianças em sua própria casa⁽⁴⁾.

A produção de citocinas e suas interações são importantes no entendimento da base imunológica da hipótese de higiene. As células T auxiliares (Células T helper) são classificadas em vários grupos (Th0, Th1, Th2, Th3) de acordo com o tipo de linfocinas que produzem. As células Th0 são células T simples cuja polarização tanto para Th1 quanto Th2 ocorre através da liberação de citocinas oriundas de células do sistema inato. As células Th1 produzem Interleucina 1 (IL-1), Interferon γ (INF- γ), Fator de Necrose Tumoral (TNF) que

estimulam macrófagos e células T citotóxicas. As células Th2 produzem citocinas que estimulam a proliferação de células B e produção de anticorpos, tais como IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. As células T regulatórias ou células tipo Th3 são atualmente reconhecidas como importantes na regulação ou desvio da resposta imune através da produção de IL-10 e Fator de Crescimento e Transformação (TGF- β)⁽⁵⁾.

A “Hipótese da Higiene” foi postulada para explicar a alta prevalência de doenças atópicas em países desenvolvidos pela ausência de infecções precoces na infância⁽²⁾. E assim, foi proposto que a intensa redução de infecções em países industrializados devido à melhoria da higiene, vacinação, e da utilização de antibióticos poderia alterar o sistema imunológico humano a tal ponto que ele passaria a responder inadequadamente às substâncias antigênicas ambientais inócuas. Em outras palavras, nessas circunstâncias, a relação entre a resposta imune celular tipo 1 (resposta Th1, associada a infecções bacterianas e virais, e doenças auto-imunes) e a tipo 2 (resposta Th2, associada a infecções por helmintos e doenças alérgicas) perderia o equilíbrio^(5,6). A limitada exposição a agentes patogênicos bacterianos e virais durante a primeira infância resulta em uma insuficiente estimulação de células Th1 e que, por sua vez, não podem contrabalançar a expansão de células Th2 o que resultaria em uma predisposição para alergia.

Essa proposição inicial teve suporte em diversas observações⁽⁵⁻⁸⁾. Um estudo realizado no Japão envolvendo crianças de 12-13 anos e que haviam sido submetidas a um programa de imunização para tuberculose ao nascimento, aos 6 e aos 12 anos, mostrou que nas crianças positivas ao teste tuberculínico a frequência de sintomas atópicos foi três vezes menor que naquelas crianças com o teste negativo. Os casos com resposta positiva ao teste apresentavam níveis significativamente mais elevados da citocina Th1- INF- γ e níveis inferiores das citocinas Th2 (IL-4, IL-10 e IL-13)⁽⁶⁾.

Contudo, essa afirmativa do desequilíbrio entre Th1/Th2 falha em explicar algumas observações. Por exemplo, infecções parasitárias desviam o sistema imunológico em direção à resposta Th2, mas não há aumento nas doenças atópicas embora os níveis de IgE possam ser elevados⁽⁵⁾. Em um estudo conduzido em Gabon (África) identificou-se que crianças com esquistossomose urinária apresentavam menor prevalência de reatividade a teste cutâneos com aeroalérgenos do que as crianças sem infecção. Isso foi explicado pelos elevados níveis de IL-10 produzida na esquistossomose crônica que reduziu a atopia nessas crianças africanas⁽⁷⁾.

Assim, identifica-se que tanto infecções bacterianas quanto parasitárias reduzem a incidência de atopia em crianças. Yazdanbakhsh e colaboradores, 2002, concluem que uma

complexa rede regulatória anti-inflamatória através de contínuas modificações no sistema imune sustentam uma justificativa uniforme para a associação negativa de muitas infecções e doenças alérgicas⁽¹⁾.

Infecções parasitárias e alergia

As geohelmintíases estão entre os parasitos que atingem crianças em muitas regiões do mundo⁽⁸⁾. Estima-se que bilhões de pessoas, mundialmente, estejam infectadas com geohelmintos tais como *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e *Necator americanus*⁽⁹⁾. Normalmente, as infecções ocorrem precocemente na infância e podem persistir na idade adulta através de repetidas exposições de infecção⁽¹⁰⁾. Helmintos podem viver no organismo humano em diferentes estádios de desenvolvimento tais como ovos, larvas ou vermes adultos. Além disso, diferentes espécies afetam diferentes órgãos, incluindo cólon, intestino delgado, sistema linfático, pulmões e fígado⁽¹¹⁾.

A prevalência de infecções parasitárias tem declinado em países industrializados e em países ocidentais e, por outro lado, nas últimas duas a três décadas tem-se observado um significativo aumento na prevalência de doenças alérgicas, que tem como principais expressões clínicas a asma, rinoconjuntivite alérgica, dermatite atópica e alergia alimentar⁽¹²⁾. Estima-se que 300 milhões de pessoas sofrem de asma no mundo e, esse número vem aumentando^(13,14) apesar de existir uma prevalência consideravelmente menor de doenças alérgicas nos países em desenvolvimento. Existe também uma clara diferença de prevalência de alergia entre as diversas áreas urbanas e rurais^(12,15,16,17).

Para explicar essas observações, fatores ambientais associados com estilos de vida industrializados e urbanos têm sido estudados intensivamente, mas, existem poucas e consistentes evidências que sugiram claros fatores de risco tais como exposição à alérgenos domiciliares, poluição, mudanças na dieta e até aleitamento materno que possam justificar o aumento das atopias. Contudo, outra categoria de fatores ambientais - as infecções na infância – mostra uma esmagadora e consistente associação negativa com atopia e doenças alérgicas. A sensibilização alérgica é mais presente entre os filhos primogênitos, mas é menos freqüente em crianças de famílias numerosas⁽²⁾ e naqueles que freqüentam creches⁽⁴⁾ sugerindo que a freqüente circulação de infecções possa ter um efeito protetor.

Matricardi e colaboradores mostraram que a exposição a alimentos e agentes patogênicos orofecais tais como hepatite A, *Toxoplasma gondii*, *Helicobacter pylori*, reduzem o risco de atopia em até 60%⁽¹⁸⁾. Estudos da colonização intestinal indicam diferenças na taxa de colonização microbiana⁽¹⁹⁾ bem como o tipo de bactérias envolvidas *Clostridium versus*

Lactobacillus) em crianças com e sem predisposição à alergia⁽²⁰⁾. As crianças alérgicas apresentavam uma menor quantidade de lactobacilos e bifidobacterias quando comparadas com crianças não alérgicas⁽²¹⁾.

Tanto infecções helmínticas quanto alergias são associadas a elevados níveis de IgE, eosinofilia periférica, mastocitose, hipersecreção de muco e respostas de células CD4+ que preferencialmente secretam citocinas Th2 tais como IL-4, IL-5 e IL-13^(22, 23). Contudo, em todo o mundo, a distribuição de ambas as doenças não se sobrepõem geograficamente. Enquanto as doenças alérgicas são mais prevalentes em países desenvolvidos, as infecções helmínticas são mais comuns naqueles menos desenvolvidos ou em desenvolvimento^(22, 23).

Assim, embora infecção helmíntica e doença atópica estejam associadas com fenômenos imunológicos semelhantes, a evolução clínica com respeito à hipersensibilidade imediata e inflamação são claramente diferentes⁽²²⁻²⁴⁾. Quando se considera que em torno de um bilhão de pessoas que estão infectadas com elevadas cargas de helmintos e sofrem de deficiências nutricionais, de crescimento e cognitivas e são raramente afetadas por doenças alérgicas, então fica claro que uma forte resposta celular imune Th2 não é o único fator precipitante de eventos alérgicos.

A possibilidade de uma direta correlação entre alergias e infecções helmínticas tem sido intensivamente estudada⁽²⁴⁻³⁰⁾. Vários inquéritos do tipo corte transversal e estudos de caso-controle têm investigado a relação entre helmintos e a presença de alergia. A maioria dessas pesquisas identificou a infecção helmíntica pela presença de ovos e larvas nas fezes enquanto as respostas alérgicas foram determinadas por vários meios, tais como história de manifestações alérgicas, testes cutâneos alérgicos e níveis séricos totais e específicos de IgE. Contudo, alguns desses estudos apresentam resultados conflitantes sugerindo desde nenhuma relação entre infecção helmíntica e alergia ou até mesmo um efeito protetor. Contudo, outros indicam uma inversa associação entre a prevalência de helmintos e resposta imune alérgica⁽²⁴⁻³⁰⁾.

Vários estudos têm mostrado uma correlação negativa entre infecções helmínticas e sensibilização a antígenos cutâneos com um reduzido risco de atopia para a maioria das infecções tais como *Schistosoma haematobium*⁽⁷⁾ *Schistosoma mansoni*^(31,32) *Ascaris lumbricoides*^(26,28) e *Necator americanus*^(33,25).

Um estudo de meta-análise de dados de inquéritos epidemiológicos realizados durante 40 anos - de 1966 a 2006 - procurou determinar se todas as infecções parasitárias ou alguma espécie específica é associada com a redução do risco de asma ou sibilância. Trinta e três estudos preencheram os critérios de inclusão e foram analisados. Infecções que incluíam qualquer parasito foram associadas com um pequeno, mas não significativo aumento no risco

de asma. Na análise espécie-específica *Ascaris lumbricoides* estava associado com significativo aumento de asma, enquanto infecções por *Ancilostomidae* demonstravam uma forte redução que era direta e significativamente relacionada à intensidade da infecção⁽³⁴⁾.

Enquanto a infecção por *Schistosoma mansoni* tem consistentemente mostrado uma associação negativa com teste cutâneos de alergia e asma grave^(7,32) infecção com helmintos intestinais podem apresentar nenhuma associação, associação negativa ou mesmo positiva com manifestações atópicas⁽³⁵⁾.

Essas inconsistências nos achados poderiam ser explicadas por diferentes fatores: a idade e carga genética da população de estudo, como também a espécie do helminto estudado. Contudo, avalia-se que a intensidade da infecção talvez seja o fator mais importante, uma vez que infecções crônicas com elevadas cargas parasitárias estão fortemente associadas com resposta regulatória e protetora de alergias, enquanto que infecções agudas e com baixa carga parasitária levam a potentes reações alérgicas aumentando a resposta Th2 sem induzir a mecanismos regulatórios^(36,37).

Relevância clínica

A observação do aumento da prevalência de doenças alérgicas e de doenças auto-imunes e de sua possível associação com a queda ou ausência de infecções parasitárias estimulou diversos estudos visando a aplicação clínica da colonização helmíntica^(38,39,40). Dessa forma “helmintos medicinais” e derivados químicos de helmintos⁽⁴¹⁾ poderiam ser úteis para a prevenção e tratamento de desordens imunológicas emergentes.

A Hipótese de Higiene tem sido refinada na Hipótese de “velhos amigos” que sugere que o sistema imune humano evoluiu com certos organismos por tão longo tempo que eles se tornaram mutuamente simbióticos. Em outras palavras, o ser humano tem evoluído em torno da presença de determinados parasitos e a sua ausência pode resultar em condições “anormais” tais como doenças auto-imunes e doenças alérgicas⁽⁴²⁾. Baseado nesse princípio, pesquisadores têm desenvolvido trabalhos com vista a introdução no organismo de “pequenas doses” de “micróbios” que possam atuar apenas como uma proteção de doenças.

Atualmente é possível expor crianças que vivem em ambientes limpos (assépticos) e higiênicos “alimentando-os” com probióticos os quais consistem de culturas de bactérias potencialmente benéficas da microflora intestinal sadia. Em termos biológicos seria uma “sujeira” que consiste em micróbios encontrados em fezes e em solos contaminados com fezes⁽⁴³⁾. Um desses micróbios encontrados na microflora intestinal sadia é o *Lactobacillus*

rhamnosus. Se a hipótese de higiene é verdadeira, é possível reduzir a incidência de atopia em crianças expondo-as a esse tipo de “sujeira”.

Um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado e controlado (uso de placebo), conduzido na Finlândia envolveu 159 mães de famílias com história familiar de atopia. Foi administrado a elas duas cápsulas com placebo ou com *Lactobacillus rhamnosus*, diariamente, durante 2 a 4 semanas anterior ao parto. Após o parto, as mães que amamentavam recebiam novamente as cápsulas ou as crianças recebiam o agente oralmente por seis meses. As crianças foram seguidas até dois anos após o nascimento e observou-se que a frequência de eczema atópico no grupo que recebeu probióticos foi a metade daqueles do grupo placebo. Assim, a pesquisa mostrou que a exposição a produtos bacterianos nos primeiros anos de vida reduz a incidência de atopia ⁽⁴⁴⁾.

Os maiores ensaios clínico com uso terapêutico de vermes foi iniciado por Joel Weinstock da Universidade de Iowa (Estados Unidos). Nesses estudos, foi avaliado o efeito da infecção por *Trichurus suis* no curso clínico de duas doenças intestinais inflamatórias, colite ulcerativa e Doença de Crohn. O primeiro incluiu pacientes que foram tratados de forma randomizada com ovos de *T. suis* ou placebo. Uma resposta favorável foi obtida em aproximadamente 50% dos tratados enquanto o mesmo resultado só foi obtido em 16% do grupo placebo, o que mostrou uma diferença significativa. Nos 29 pacientes com Doença de Crohn a frequência de remissão foi de 72,4% e a frequência de resposta positiva à terapêutica de 79,3% ⁽⁴⁵⁾.

A infecção com geohelminthos tem potencial terapêutico no tratamento e prevenção da asma, mas é necessário estabelecer a intensidade da infecção que é protetora e não patogênica. Para esse fim, pesquisadores da Universidade de Nottingham (Reino Unido) têm desenvolvido trabalhos para estabelecer a dose segura de administração de geohelminthos em pacientes asmáticos ⁽³⁹⁾.

Se a resposta imune é uma manifestação generalizável e aplicável a outras infecções por helmintos, essas observações requerem estudos adicionais em filariose humana a fim de que se avalie a relação semelhante entre filariose e alergia.

A Filariose Linfática e reações imunes

As populações de países tropicais e subtropicais têm por longo tempo sido submetidas ao risco da filariose linfática (FL). Essa doença crônica parasitária constitui um dos grandes problemas de saúde pública e de significativo impacto socioeconômico sendo atualmente endêmica em 83 países do mundo ^(46,47,48). No Brasil, a Região Metropolitana do Recife (Pernambuco) é a única área atualmente considerada pelo Ministério da Saúde com transmissão ativa da infecção filarial ⁽⁴⁹⁾. É uma doença negligenciada, sendo prevalente em populações de baixo nível sócio-econômico, carentes em saneamento e água tratada ⁽⁵⁰⁾.

A FL é responsável por sérios quadros de incapacitação, desfiguração de extremidades e de genitália responsáveis pela perda de produtividade de trabalho, elevados custos no tratamento e estigma social acentuado. Assim, estima-se que o ônus da doença seja 3,5 vezes maior que o da esquistossomose e aproximadamente sete vezes menor que o da malária ⁽⁵¹⁾.

Em 1993, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou ser a FL uma das seis doenças infecciosas potencialmente elimináveis e, após a Resolução da Assembléia Mundial de Saúde de 1997, lançou em 1998, o Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática (PGELF) cujo objetivo maior é a eliminação da doença como um problema de saúde pública até o ano de 2020 ⁽⁵²⁾. O plano baseia-se na administração do tratamento em massa com dietilcarbamazina (DEC) isolada ou associada ao albendazol. No final do ano de 2006, aproximadamente 115 milhões de pessoas já haviam se submetido ao tratamento em massa e 42 países já se encontravam com o programa de controle em andamento ⁽⁵³⁾.

A filariose linfática é uma doença causada por helmintos da classe Nematoda das espécies *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* e *Brugia timori* comumente chamados filária e que parasitam o sistema linfático do organismo humano. O homem é o hospedeiro definitivo da *W.bancrofti* e da *B.timori* enquanto a *B.malay*i infectam algumas aves e animais domésticos como macacos e gatos ^(54,55). A transmissão se faz durante o repasto sanguíneo através de picada da fêmea de mosquitos, principalmente pelo *Culex quinquefasciatus* e algumas espécies de *Anopheles*.

No Brasil, a infecção ocorre exclusivamente pelo parasitismo de helmintos da espécie *Wuchereria bancrofti* daí originando-se o nome bancroftose, e o único transmissor é o *Culex quinquefasciatus* mosquito cosmopolita comum nas regiões tropicais e subtropicais.

Nos mosquitos alimentados em pessoas infectados as microfilárias ingeridas sofrem duas mudas até transformarem-se em L3-larva infectante. Essa larva infectante é transmitida ao homem através da picada do mosquito quando esse realiza nova hematofagia. A larva penetra no corpo humano através da pele e migra para os linfonodos regionais e vasos

linfáticos, onde sofrem maturação para o estágio de larvas jovens (L4), e posteriormente após alguns meses, se tornam vermes adultos, evoluindo para macho e fêmea. Esses vermes podem sobreviver no organismo humano até em torno de 15 anos. Eles copulam no sistema linfático e as fêmeas podem produzir milhões de microfilárias - que são formas embrionárias^(56,57). O intervalo entre a infecção pela *W. bancrofti* e a detecção de microfilárias no sangue periférico (período pré-patente) é estimado em sete meses⁽⁵⁸⁾. Uma característica peculiar das microfilárias é a periodicidade noturna no sangue periférico dos hospedeiros, na maioria das regiões endêmicas. Durante o dia elas se localizam nos capilares profundos, principalmente nos pulmões e à noite ganham a circulação sanguínea periférica onde são diagnosticadas⁽⁵⁹⁾.

A expressão clínica da filariose linfática no ser humano está presente em relativa pequena proporção da população afetada e é principalmente causada por ação dos vermes adultos vivos presentes no sistema linfático. Eles causam danos ao sistema linfático através dos seus produtos metabólicos e, em consequência levam a quadros clínicos recorrentes de linfadenite aguda e linfangite. A morte e degeneração dos vermes adultos induzem à resposta inflamatória local e podem incapacitar os vasos linfáticos e comprometer o fluxo da linfa. Na filariose bancroftiana a hidrocele é uma importante manifestação clínica, ocorrendo também linfedema de membros que pode evoluir para o grau extremo de elefantíase, bem como edema de pênis, escroto e mama⁽⁶⁰⁾.

Uma importante característica da FL em residentes de uma área endêmica é o fato de que apesar de repetidas e longa exposição às larvas infectantes, a maioria dos indivíduos não apresentam doença clínica. Isso contrasta com o caso de não-endêmicos que são expostos a áreas de elevados níveis de transmissão. Esses indivíduos, como ocorreram com os soldados americanos enviados para o Pacífico na 2ª Guerra mundial, frequentemente apresentavam quadros de linfangite e outras manifestações clínicas de FL⁽⁶¹⁾.

Nos últimos anos uma vasta produção científica tem demonstrado que devido à capacidade do nematóide filarial modular a resposta imune do hospedeiro esse se torna tolerante ao parasito por longo tempo⁽⁶¹⁻⁶⁵⁾.

No homem as modificações no sistema imune induzidas pela FL parecem já iniciar antes do nascimento. Vários estudos demonstram que crianças nascidas de mães com infecção filarial apresentam um sistema imune desviado em direção ao antígeno filarial o que favorece a infecção nesse grupo etário⁽⁶³⁻⁶⁵⁾. As características típicas são: a menor proliferação de células T do cordão venoso umbilical, maior produção de citocina regulatória IL-10 (algumas vezes, mas nem sempre acompanhadas por outras citocinas Th2) como também por maiores níveis de IgG4. Acredita-se que o sistema imune já é “preparado” intra-útero para

desencadear uma resposta inflamatória reduzida à filaria, o que leva a uma menor manifestação da doença e ao mesmo tempo permite maiores taxas de infecção e maior carga parasitária ⁽⁶²⁾.

Estudo epidemiológico recente tem confirmado, em escala populacional, uma correlação positiva entre elevada transmissão e redução da resposta imune na FL, possivelmente como consequência de alta prevalência de infecção e de altas cargas parasitárias ⁽⁶⁶⁾.

Está claro que uma vez o organismo tenha sucessivamente invadido o hospedeiro e produzido microfilárias, seja interessante para ambos- parasito e hospedeiro – limitar a resposta imune. Na FL ressalta-se no processo de doença em humanos quando a reação inflamatória não é limitada. Acredita-se que a liberação excessiva de mediadores pró-inflamatórios leva à alteração do vaso e estabelecimento de patologia linfática tal como linfedema ou diferentes formas de “filaricele” tais como hidrocele, linfocele, etc ⁽⁶⁷⁻⁶⁹⁾.

Várias observações têm levado à conclusão que ambas as respostas Th1 e Th2 contribuem para a inflamação e mecanismos efetores limitando assim a carga parasitária, mas também levando ao dano tecidual, enquanto que concomitante supressão de ambas essas respostas deve ser alcançada para que ocorra altas cargas parasitárias associado a baixo grau de dano ao hospedeiro ⁽⁶²⁾.

Assim, indivíduos com FL com altas cargas parasitárias apresentam reduzida resposta de célula T antígeno-específica, em particular baixa produção das citocinas IFN-gama e IL-5 ⁽⁷⁰⁾. Por outro lado, existe bastante evidência do aumento da produção de IL-10 e TGF-beta pelas células de pacientes microfilarêmicos ^(71,72). Também, a reconhecida ausência de resposta proliferativa de células T a antígenos filariais é evidenciada não pela ausência ou anergia dessas células, mas devido à regulação, uma vez que a neutralização *in vitro* de citocinas regulatórias IL-10 e/ou TGF-beta em culturas de células de ambos pacientes com oncocercose ou FL foi capaz de restaurar a proliferação ^(71,73,74). A restauração *in vitro* da proliferação antígeno-específica e redução da produção de IL-10 também foi observada após a quimioterapia antifilarial tanto na oncocercose ⁽⁷⁵⁾ quanto na FL ⁽³⁶⁾. Assim, existe uma clara correlação de IL-10 (e / ou TGF-beta) com altas cargas de microfilárias e relativamente pouca doença, e com alta produção de IL-5 e/ou IFN-gama e função efetora pró-inflamatória resultando em baixa carga de microfilárias, mas associada à doença filarial. Essas observações são compatíveis com dados de modelo animal demonstrando que os mecanismos efetores dependentes de resposta Th1 e Th2 limitam a carga parasitária enquanto a IL-10 pode aumentá-la ou induzir à infecção patente.

A imunomodulação produzida por nematoides filariais predispõe a que se estenda a outros antígenos não-filariais. Assim, a infecção filarial pode ter profunda implicação na reação imune contra outros antígenos, sejam eles vacinas, alérgenos ambientais ou outras infecções⁽⁶²⁾.

Com relação a vacinas existe uma série de estudos demonstrando que pacientes com filariose apresentam uma menor resposta de anticorpos e de resposta imune celular após vacinação contra tétano comparado com indivíduos endêmicos normais (“não-infectados”). Níveis de IFN- γ foram significativamente mais elevados em não-infectados com filaria. De forma contrária, indivíduos infectados produzem IL-10 de forma diferente que os indivíduos endêmicos normais⁽⁷⁶⁾. A hipótese de que o mecanismo que reduz a resposta imune a outros antígenos esteja envolvido com a IL-10 está baseado em estudos posteriores e é compatível com o quadro de uma rede regulatória que é desencadeada por células T parasito-específica, mas que se estende a outros antígenos regulando células apresentadoras de antígenos através de produção de citocinas não-específicas⁽⁶²⁾.

Conclusões

Ainda é desconhecida as reações imunes em crianças e adolescentes microfilarêmicos bem como não existem dados publicados quanto à associação entre infecções filariais e alergia ⁽⁶⁰⁾ com exceção da eosinofilia pulmonar tropical que tem sido descrita em áreas endêmicas de infecção filarial, exibindo manifestações clínicas semelhantes à asma ⁽⁷⁷⁾. Essa manifestação, contudo, ocorre em indivíduos que são hipersensíveis a antígenos filarias e é mais comum naqueles esporadicamente expostos e frequentemente amicrofilarêmicos ⁽⁷⁸⁾. Hoje, sabe-se que é evento raro em zona endêmica.

Particularmente nos países em desenvolvimento, programas sistemáticos de erradicação de infecções parasitárias têm sido preconizados pela OMS e introduzidos em muitas áreas como importante instrumento de saúde pública visando prevenir a morbidade e reduzir a transmissão. O Brasil, particularmente a RMR, em Pernambuco aderiu ao Programa Global de Eliminação da Filariose Linfática lançado pela OMS com vistas à eliminação da FL utilizando a estratégia do tratamento coletivo.

Embora a erradicação seja indubitavelmente benéfica a muitos aspectos de saúde pública e individual, a hipótese que infecção parasitária possa proteger contra doença alérgica aumenta a possibilidade que a erradicação possa aumentar a asma e outras manifestações de alergia. Por essa razão, e também porque qualquer efeito protetor deve fornecer subsídios na patogênese e possíveis oportunidades terapêuticas na doença alérgica, é importante estabelecer se infecções parasitárias e asma estão de fato relacionados ⁽³⁴⁾.

Se essa resposta é uma manifestação generalizável e que se aplique a outras infecções por helmintos, essas observações requerem estudos adicionais em filariose humana a fim de que se confirme ou negue relação semelhante entre filariose e alergia ⁽⁶²⁾.

Levando-se em conta a adesão do Brasil, e, particularmente a RMR nos programas de controle das parasitoses lançado pela Organização Mundial de Saúde com vistas à eliminação da Filariose Linfática em todo o mundo até o ano de 2020, é de fundamental importância o entendimento de questões subseqüentes ao tratamento coletivo instituído na população envolvida. A queda de prevalência da infecção filarial em uma área poderá influenciar a prevalência de manifestações alérgicas nessa população?

Referências

1. Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, Van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 2002; 296: 490–4.
2. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *Bmj.* 1989; 299: 1259–60.
3. Schultz LF. Atopic dermatitis: A genetic – epidemiological study in a population-based twin sample. *J Am Acad Dermatol.* 1993; 28: 719-23.
4. Kramer U, Heinrich J, Wjst M, Wichmann HE. Age of entry to day nursery and allergy in later childhood. *Lancet* 1999; 353: 450-4.
5. Patki A. Eat dirt and avoid atopy: The hygiene hypothesis revisited. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007;73:2-4.
6. Shirakawa T, Enomoto T; Shimazu S; Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997; 275: 77-9.
7. Van Den Biggelaar AH; Van Ree Ronald; Rodrigues LC; Lell B; Deelder AM; Kremsner PG et al. Decreases atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*. A role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* 2000; 356: 1723-7.
8. Nataro JP, Sears CL. Infectious causes of persistent diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 195-6.
9. Savioli L, Stansfield S, Bundy DA, Mitchell A, Bhatia R, Engels D et al.. Schistosomiasis and soiltransmitted helminth infections: forging control efforts. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002; 96: 577-9.
10. Bruschi F, Castagna B. The serodiagnosis of parasitic infections. *Parasitologia* 2004; 46: 141-4.
11. Van Riet E, Hartgers FC., Yazdanbakhsh M. Chronic helminth infections induce immunomodulation: Consequences and mechanisms *Immunobiology.* 2007; 212 : 475–90.
12. ISAAC Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet* 1998; 351: 1225-32.

13. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004; 59:469-78.
14. GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma (GINA) 2007. Disponível on line: <<http://www.ginasthma.org>> Acessado em 27.08.08.
15. Yemaneberhan H, Bekele Z, Venn A, Lewis S, Parry E, Britton J. Prevalence of wheeze and asthma and relation to atopy in urban and rural Ethiopia. *Lancet* 1997; 350: 85-90
16. Nicolai T. Epidemiology of pollution-induced airway disease: urban/rural differences in East and West Germany. *Allergy* 1997; 52: 26-9.
17. Eduard W, Omenaas E, Bakke PS, Douwes J, Heederik D. Atopic and non-atopic asthma in a farming and a general population. *Am J Ind Méd* 2004; 46: 396-9.
18. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, Ferrigno L, Rapicetta M et al. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ* 2000; 320: 412-7.
19. Sepp E, Julge K, Vasar M, Naaber P, Bjorksten B, Mikelsaar M. Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants. *Acta Paediatr* 1997; 86: 956-61.
20. Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 342-6.
21. Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, Okamatsu H, Ikenaga T, Tajiri Y et al.. Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 587-9.
22. Maizels RM, Bundy DA, Selkirk ME., Smith DF, Anderson RM. Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. *Nature*.1993; 365: 797-805.
23. Holt PG, Macaubas C, Stumbles PA, Sly PD. The role of allergy in the development of asthma. *Nature* 1999. 402: B12-B17 e disponível em http://publishing.eur.nl/ir/repub/asset/6749/050420_Bernsen-Roos%20bw23-2B.pdf Acesso em: 15 maio 2008.

24. Davey G, Venn A, Belete H, Berhane Y, Britton J. Wheeze, allergic sensitization and geohelminth infection in Butajira, Ethiopia. *Clin Exp Allergy* 2005; 35:301-7.
25. Scrivener S, Yemaneberhan H, Zebeñigus M, Tilahun D, Girma S, Ali S et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. *Lancet*. 2001; 358:1493-9.
26. Nyan OA, Walraven GE, Banya WA, Milligan P, Van Der Sande M, Ceesay SM et al. Atopy, intestinal helminth infection and total serum IgE in rural and urban adult Gambian communities. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1672-8.
27. Palmer LJ, Celedon JC, Weiss ST, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Méd*. 2002; 165: 1489-93.
28. Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin GE, et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 995-1000.
29. Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 313-7.
30. Dagoye D, Bekele Z, Woldemichael K, Nida H, Yimam M, Hall A, et al. Wheezing, allergy, and parasite infection in children in urban and rural Ethiopia. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1369-73.
31. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-Atta T, Sole D et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 55 (Suppl 1): S2-10.
32. Medeiros MJR, Almeida MC, Figueiredo JP, Atta AM, Mendes CM, Araújo MI et al. Low frequency of positive skin test in asthmatic patients infected with *Schistosoma mansoni* exposed to high levels of mite allergens. *Pediatr Allergy Immunol*. 2004; 15: 142-7.

33. Lynch NR, Palenque M, Hagel I, DiPrisco MC. Clinical improvement on asthma after antihelminthic treatment in a tropical situation. *Am J Respir Crit Care Méd.* 1997; 156: 50-4
34. Leonardi-Bee JO; Pritchard D; Britton J. Asthma and Current Intestinal Parasite Infection Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Respir Crit Care Méd.* 2006, 174: 514–23.
35. Cooper PJ; Barretos ML; Rodrigues, LC. 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.* 2006; 79: 203-18.
36. Yazdanbakhsh, M., Van Den Biggelaar A., Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol.* 2001; 22: 372-7.
37. Cooper, PJ. Intestinal worms and human allergy. *Parasite Immunol.* 2004; 26: 455–67.
38. Summers RW, Elliott D E, Urban, JrJ F, Thompson R, Weinstock JV *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut* 2005;54:87-90.
39. Mortimer K, Brown A, Feary J, Jagger C, Lewis S, Antoniak M et al. Dose-Ranging Study for trials ff Therapeutic Infection With *Necator Americanus* In Humans. *Am J Trop Med Hyg.*2006; 75(5):914–20.
40. Rocha FAC, Leite AKRM, Pompeu MML, Cunha TM, Verri Jr WA, Soares FM et al. Protective Effect of an Extract from *Ascaris suum* in Experimental Arthritis Models *Infect. Immun* 2008; 76: 2736-45.
41. Whelan M, Harnett MM, Houston KM, Vanshree P, Harnett W, Rigley KP A filarial Nematode-secreted product signals dendritic cells to acquire a phenotype that drives development of Th2 cells *J. Immunol.* 2000; 164: 6453-60.
42. Rook GAW, Adams V, Hunt J, Palmer R, Martinelli R, Brunet R. Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders *Springer Semin Immunopathol.* 2004; 25(3-4):237-55.

-
43. Arkwright PD, David T. Eat dirt- the hygiene hypothesis of atopic disease. In: David TJ, editor. Recent advance in Paediatrics 21. Royal Society of Medicine Press Ltd; London, 2004. p 199-215.
 44. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001; 357:1076-9.
 45. Falcone, FH and Pritchard, DI. Parasite role reversal: worms on trial. *Trends Parasitol* 2005; 21: 157-60.
 46. World Health Organization. Global Programme to Eliminate Filariasis. *Wkly Epidemiol Rec* 2006; 81: 221-32.
 47. Zagaria N, Savioli L. Elimination of lymphatic filariasis: a public-health challenge. *Ann Trop Med Parasitol* .2002; 96 (Suppl. 2):S3–S13.
 48. Molyneux D, Lymphatic filariasis (elephantiasis) elimination: a public health success and development opportunity. *Filaria J* .2003; 2: 13.
 49. World Health Organization. Global Programme to Eliminate Filariasis. *Wkly Epidemiol Rec*. 2008; 83: 333-48.
 50. World Health Organization. Preventive chemotherapy and transmission control-Brochure Disponível em:http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_2006.3a_eng.pdf . Acessado em 04.07.2008
 51. World Health Organization, 2004. *The World Health Report 2004 – Changing History*. Geneva: World Health Organization.
 52. Addiss, DG. Global elimination of lymphatic filariasis: origins, progress and challenges. *Indian J.Urol*. 2005; 21:12-7.
 53. World Health Organization, Global programme to eliminate lymphatic filariasis. *Wkly Epidemiol Rec* 2007; 82: 361-80.

-
54. Masbar S, Palmieri JR, Marwoto HA, Purnomo, Darwis F. Blood parasites of wild and domestic animals from South Kalimantan (Borneo), Indonesia. Southeast Asian J.Trop.Med.Public Health 1981. 12: 42-6.
55. Suzuki T, Sudomo M, Bang YH, Lim BL, Studies on Malayan filariasis in Bengkulu (Sumatera), Indonesia with special reference to vector confirmation. Southeast Asian J.Trop.Med.Public Health. 1981; 12: 47-54.
56. Rey L. *Wuchereria bancrofti* e filariose linfática. IN; Rey L (ed.)Parasitologia, 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p 542-55.
- 57.Napier LE. Filariasis due to *Wuchereria bancrofti* Medicine.1944; 23:149-79.
58. World Health Organization, 1992. Lymphatic filariasis: the disease and its control. World Health Organization, Geneva
59. Hawking F, Jennings T, Louis FJ, Taira,E. The mechanisms with affect the periodic cycle of Pacific *Wuchereria bancrofti* microfilariae. J Helminthol. 1981,55: 95-100.
60. Wahyuni S. Helminth infections, allergic disorders and immune responses: studies in Indonesia. 2006. Thesis (doctoral) - Faculty of Medicine, Leiden University Medical Center, Leiden University, Leiden, 2006. Disponível on-line: <<http://hdl.handle.net/1887/4986>>. Acesso em: 18 maio 2008.
61. Kazura J.M. Resistance to infection with lymphatic-dwelling filarial parasites. In: Nutman TB. (Ed.) Lymphatic Filariasis, Bethesda: Imperial College Press, Chap.4,Tropical Medicine: Science and Practice. 2000.p. 93.
62. Hoerauf A, Satoguina J, Saeftel M, Specht S. Immunomodulation by filarial nematodes. Parasite Immunol 2005;27::417–29.
63. Steel C, Guinea A, McCarthy JS, Ottessen EA. Long-term effect of prenatal exposure to maternal microfilaraemia on immune responsiveness to filarial parasite antigens. Lancet. 1994; 343: 890-3.
64. Pit DSS, Polderman AM, Schulz-Key H, Soboslay PT. Prenatal immune priming with helminth infections: parasite-specific cellular reactivity and Th1 and Th2 cytokine responses in neonates. Allergy 2000; 55: 732–9.

-
65. Malhotra I, Ouma JH, Wamachi A, Kioko J, Mungai P, Njzovu M et al.. Influence of maternal filariasis on childhood infection and immunity to *Wuchereria bancrofti* in Kenya. *Infect Immun* 2003; 71: 5231–7.
 66. King CL, Connelly M, Alpers MP, Bockarie M, Kazura JW. Transmission intensity determines lymphocyte responsiveness and cytokine bias in human lymphatic filariasis. *J Immunol* 2001; 166: 7427–36.
 67. Dreyer G, Noroes J, Figueredo-Silva J, Piessens, WF. Pathogenesis of lymphatic disease in bancroftian filariasis: a clinical perspective. *Parasitol Today* 2000; 16: 544–8.
 68. Witt C & Ottesen EA. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. *Trop Med Int Health* 2001; 6: 582–606.
 69. Ottesen EA; Weil GJ; Lammie PJ; Bradley MH; Kumaraswami V; Addiss DG et al. Towards a strategic plan for research to support the global program to eliminate lymphatic filariasis - Summary of immediate needs and opportunities for research on lymphatic filariasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2004; 71; 1-46.
 70. Sartono E, Kruize YC, Kurniawan A, Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Depression of antigen-specific interleukin 5 and interferon-gamma responses in human lymphatic filariasis as a function of clinical status and age. *J Infect Dis* 1997; 175: 1276–80.
 71. King CL, Mahanty S, Kumaraswami V, Abrams JS, Regunathan J, Jayaraman K et al. Cytokine control of parasite-specific anergy in human lymphatic filariasis. Preferential induction of a regulatory T-helper type 2 lymphocyte subset. *J Clin Invest* 1993; 92: 1667–73.
 72. Mahanty, S & Nutman TB. Immunoregulation in human lymphatic filariasis: the role of interleukin 10. *Parasite Immunol.* 1995; 17: 385-92.
 73. Doetze A, Satoguina J, Burchard G, Rau T, Löliger C, Fleischer B, et al. Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in generalized onchocerciasis is mediated by Th3/Tr1-type cytokines IL-10 and TGF beta but not by a Th1 to Th2 shift. *Int Immunol* 2000; 12: 623–30.

-
74. Cooper PJ, Mancero T, Espinel M, Sandoval C, Lovato R, Guderian, RH, et al. Early human infection with *Onchocerca volvulus* is associated with an enhanced parasite specific cellular immune response. J Infect Dis 2001; 183: 1662–8.
75. Henry NL, Law M, Nutman TB, Klion AD. Onchocerciasis in a nonendemic population: clinical and immunologic assessment before treatment and at the time of presumed cure. J Infect Dis. 2001; 183: 512–6.
76. Cooper PJ, Espinel I, Paredes W, Guderian RH, Nutman TB. Impaired tetanus-specific cellular and humoral responses following tetanus vaccination in human onchocerciasis: a possible role for interleukin 10. J Infect Dis 1998; 178: 1133-8.
77. Ottesen EA. and Nutman TB. Tropical pulmonary eosinophilia. Annu Rev Med 1992; 43:417- 24.
78. Ong RK. and Doyle RL. Tropical pulmonary eosinophilia. Chest 1998. 113: 1673-9.

RESULTADOS

CAPÍTULO 5



Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais

Epidemiological assessment of neglected tropical diseases children in northeastern Brazil: lymphatic filariasis and intestinal parasites (soil-transmitted helminthiasis)

Filariose vs geohelmintíase e tratamento coletivo

Ana M Aguiar-Santos^I; Zulma Medeiros^{II}; Cristine Bonfim^{III}; Abraham C. Rocha^{IV}; Eduardo Brandão^V, Tereza Miranda^{VI}; Paula Oliveira^{VII}; Emanuel S. C. Sarinho^{VIII}

^IMestre em Pediatria. Doutoranda de Saúde da Criança e do Adolescente. Pesquisadora do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz, Recife (PE). E-mail: amas@cpqam.fiocruz.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2301102109196735>. Contribuição: elaboração do projeto, coleta e análise dos dados e elaboração do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar

^{II}Doutora em Biologia Celular e Molecular. Pesquisadora do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz. Professora da Universidade de Pernambuco, Recife (PE). E-mail: medeiros@cpqam.fiocruz.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4172369047278624>. Contribuição: análise dos dados e elaboração do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar

^{III}Doutora em Saúde Pública. Pesquisadora da Fundação Joaquim Nabuco, Recife (PE). E-mail: cristine.bonfim@fundaj.gov.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8938044461312593>. Contribuição: análise dos dados e elaboração do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar.

^{IV}Doutor em Biologia Celular e Molecular. Pesquisador do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz, Recife (PE). E-mail: rocha@cpqam.fiocruz.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3350483530360661>. Contribuição: coleta dos dados e revisão do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar

^VDoutor em Medicina Tropical. Tecnologista em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz, Recife (PE). E-mail: brandaoe@cpqam.fiocruz.br. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8311608706120863>. Contribuição: coleta dos dados e revisão do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar

^{VI}Secretária de Saúde do município de Olinda-PE. E-mail: tereza_miranda@hotmail.com. Não possui currículo Lattes. Contribuição: elaboração do projeto e revisão do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar

^{VII}Mestre em Saúde Pública. Secretaria de Saúde de Olinda (PE). E-mail: paullinha_oliveira13@hotmail.com Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0627457880936379>. Contribuição: coleta dos dados e revisão do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar.

^{VIII}Doutor em Pediatria. Professor associado, UFPE, Recife, PE. Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, UFPE, Recife, PE. Email: emanuel.sarinho@gmail.com. Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0557373983746122>. Contribuição: elaboração do projeto e revisão do manuscrito. Conflito de interesses: Nada a declarar.

Instituição: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz.

Correspondência: Ana M Aguiar-Santos. Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Departamento de Parasitologia. Campus da Universidade Federal de Pernambuco. Av. Moraes Rego s/n. CEP. 50670-420 - Recife, PE – Brasil. Telefone: (81) 21012573. Fax: (81) 34531911

Auxílio financeiro – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo N°: 476336/2008-2).

Total de palavras do resumo: 202

Total de palavras do texto: 2.193

Total de tabelas: duas

RESUMO

Objetivo: Descrever a prevalência de infecção filarial e de parasitoses intestinais em escolares numa área endêmica de filariose e refletir sobre a opção terapêutica utilizada no Brasil no tratamento coletivo para filariose.

Métodos: Estudo transversal envolvendo 159 alunos na faixa etária de 5-18 anos cadastrados em escolas públicas do município de Olinda-PE. Realizou-se a investigação da parasitose intestinal em três amostras de fezes, analisadas pelo método de Hoffmann, Pons e Janer. A investigação filarial foi feita com teste antigênico pela técnica de imunocromatográfica rápida (ICT) e pesquisa de microfilárias, utilizando filtração em membrana de policarbonato.

Resultados: A prevalência de filariose por ICT foi de 13,8% e por microfílaemia de 1,2%, enquanto a de parasitoses intestinais foi 64,2%. A concomitância do diagnóstico filarial e de parasitoses intestinais foi de 9,4% e, 31,5% eram isentos de ambas as parasitoses. Entre os indivíduos com parasitoses intestinais, 55% eram monoparasitados e 45% poliparasitados. A presença de geohelmintos ocorreu em 72,5% dos parasitados. No grupo com infecção filarial a ocorrência de geohelmintíase foi de 54,5%.

Conclusões: O diagnóstico simultâneo de infecção filarial e parasitose intestinal em escolares, bem como a elevada frequência de geohelmintos justificam uma reavaliação da estratégia terapêutica do tratamento coletivo no programa de filariose no Brasil.

Palavras-chave: Filariose linfática. Geohelmintos. Prevenção e controle. Doenças negligenciadas.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To describe the occurrence of filarial infection and intestinal parasitic infections in schoolchildren in a filariasis endemic area and reflect on the therapeutic option used in Brazil to treat filariasis.

METHOD: A cross-sectional study involving 159 students aged between 5-18 years, enrolled in public schools within the municipality of Olinda, Pernambuco. The presence of intestinal parasites was analyzed using the Hoffman, Pons and Janer methods on 3 stool samples. Filarial investigation was analyzed using rapid immunochromatographic technique (ICT) for the antigen while membrane filtration polycarbonate was used to detect the presence of microfilariae.

RESULTS: The incidence of filariasis by ICT was 13.8% with 1.2% positive for microfilaraemia, while intestinal parasites were present in 64.2% of cases. Concomitant diagnosis of filariasis and intestinal parasites was 9.4%, while 31.5% of stools were parasite-free. Among individuals with intestinal parasites, 55% and 45% were monoparasited and polyparasited, respectively. The presence of geohelminths occurred in 72.5% of parasited individuals. In the group with filarial infection the occurrence of geohelminthiasis was 54.5%.

CONCLUSION: Simultaneous diagnosis of filariasis and intestinal parasites in students as well as the high frequency of geohelminths justify the need to reassess the therapeutic strategy adopted in Brazilian public health programs designed to treat filariasis.

Keywords: Lymphatic filariasis. Geohelminths. Prevention & control. Neglected diseases.

Introdução

As doenças negligenciadas (DN) são o conjunto de doenças causadas por agentes infecto-parasitários que produzem importante dano físico, cognitivo e socioeconômico em crianças e adolescentes, principalmente, em comunidades de baixa renda¹. Para a saúde pública, elas tornam-se um desafio, pois causam impacto no perfil de morbidade, ao produzir incapacidade grave e permanente².

A distribuição geográfica e a instalação dessas DN em determinados locais mostram que elas seguem o curso da pobreza e da ausência de saneamento básico em paralelo com a identificação de sua associação com outras doenças^{3,4}. A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera como problema de saúde pública um conjunto de 17 diferentes DN, distribuídas em 148 países. Destes, 100 são endêmicos para duas ou mais dessas doenças e 30 países para seis ou mais DN⁵. O Brasil tem nove delas^{2,6}, sendo que sete são consideradas como prioridades pelo Ministério da Saúde (dengue, doença de Chagas, leishmanioses, malária, esquistossomose, hanseníase e tuberculose)⁶. O estado de Pernambuco prevê estratégias de intervenção para redução e eliminação das seguintes: doença de Chagas, hanseníase, esquistossomose, tracoma, filariose, geohelmintoses e tuberculose⁷.

A filariose linfática no Brasil é endêmica exclusivamente na Região Metropolitana do Recife, em Pernambuco⁸. Os esforços para eliminar essa doença devem concentrar-se necessariamente sobre a prevenção, tratamento da infecção precoce de indivíduos infectados e controle ou estabilização das complicações mórbidas da infecção⁹.

As infecções por helmintos transmitidos pelo solo (geohelmintíases) impõem um grande fardo sobre as populações pobres do mundo, sendo consideradas pela OMS como prioridade em programas de tratamento coletivo as parasitoses por: *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus* e *Trichuris trichiura*¹⁰. A esquistossomose é

outra endemia que causa prejuízo à população exposta, sendo também indicado o tratamento coletivo como estratégia de controle pela OMS¹⁰.

O controle das doenças devido às infecções helmínticas, bem como a outros agentes, visa aliviar o sofrimento, reduzir a pobreza e apoiar igual oportunidades entre homens e mulheres¹¹. Como principal estratégia para o controle das DN, tem-se a quimioterapia preventiva que utiliza as drogas antihelmínticas disponíveis, isoladamente ou em combinação, visando prevenir a morbidade e também contribuir para a redução sustentada da transmissão. Uma vez que algumas destas drogas têm largo espectro e permite que diversas doenças sejam tratadas simultaneamente, seu uso torna-se uma estratégia com viabilidade operacional e mais eficaz que o tratamento individual¹¹.

A transmissão da filariose linfática ocorre apenas em tres áreas urbanas da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco: Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda¹². Recife foi o primeiro município brasileiro a aderir ao programa de tratamento coletivo¹³ e seguido pelo município de Olinda em 2005¹³. No entanto, o Brasil fez a opção de realizar o tratamento coletivo com uma única droga (dietilcarmabazina) e não utilizar a associação com o antihelmíntico (albendazol), esquema esse preconizado pela OMS¹¹.

Em decorrência da estratégia terapêutica brasileira não contemplar a associação com droga antihelmíntica, o estudo tem como objetivo descrever a ocorrência das parasitoses intestinais e da infecção filarial entre escolares numa área endêmica de filariose, e refletir sobre a opção terapêutica utilizada no Brasil no tratamento coletivo para filariose.

Métodos

O estudo foi realizado no bairro de Sapucaia localizado no município de Olinda (PE). Esse município situa-se a seis km da capital do estado, com 377.779 habitantes e uma área de 37,9 km² (98,13% urbana) distribuídos em 123.954 domicílios particulares permanentes e 25.523 em aglomerados subnormais. Com relação à infraestrutura urbana, o município possui 105.546 domicílios ligados à rede geral de abastecimento de água, 103.398 têm o lixo coletado por serviço de limpeza, 45.613 com banheiro de uso exclusivo e rede geral de esgoto ou pluvial, 102.907 dispõem de energia elétrica por companhia elétrica (com medidor) e 32.370 com classe de rendimento nominal mensal de mais ½ a 1 salário mínimo¹⁴. O bairro de Sapucaia foi selecionado por tratar-se de uma unidade do tratamento coletivo do Programa Global Eliminação de Filariose Linfática (PGEFL) do município¹³.

O estudo foi do tipo transversal, com a população constituída por estudantes na faixa etária de cinco a 18 anos de idade, matriculados em escolas públicas do bairro de Sapucaia, no período de 2009 a 2010. A amostra foi calculada tendo por universo 508 estudantes, estimando-se uma prevalência de 1.1% de microfilaremia para o município, um *design effect* = 1,0 e um erro padrão de 1,6%, um intervalo de confiança de 95%, obtendo-se n = 124. Considerando-se as possíveis perdas, calculou-se um número total de 149 escolares.

Teve-se como critérios de inclusão a faixa etária estabelecida, e as concordâncias do aluno e do seu responsável para participar do estudo através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Como estratégia de captação dos casos foram realizadas palestras de esclarecimento e sensibilização para os professores, pais e alunos. A Secretaria de Educação forneceu a listagem de todos alunos matriculados no bairro na rede do município.

Para o diagnóstico de filariose foi realizada coleta de sangue venoso, no horário entre 2300h and 0100h, procedeu-se o teste rápido de imunocromatográfica (ICT Diagnostics, Binax, NOW) que utiliza anticorpos monoclonais específicos e policlonais¹⁵ e a filtração em

membrana de polycarbonato. Para investigação dos parasitos intestinais foram analisadas três amostras de fezes, coletadas em diferentes dias, conservadas em formaldeído a 10%. A análise de cada amostra foi realizada pelo método de Hoffmann, Pons e Janer

A entrada e validação dos dados foram feitas pelo programa EpiInfo versão 6.04d, com dupla entrada e as diferenças identificadas corrigidas. Para análise estatística descritiva (média e distribuição de frequências) utilizou-se a versão 7 deste programa.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/ Fiocruz-PE (CAAE 0069.0 095 000-06). Os laudos foram distribuídos pelas escolas para os responsáveis dos menores e todos os estudantes com infecção filarial e parasitoses intestinais receberam tratamento específico.

Resultados

Foram realizadas concomitantemente a investigação filarial e a de parasitoses intestinais em 159 crianças. A idade média foi de 9,8 anos (5-18) e a distribuição por sexo de 53,4% (85/159) no sexo masculino e de 46,6% (74/159) no feminino. A ocorrência de parasitoses intestinais foi de 64,2% (102/159) e a de filariose pela técnica de ICT foi de 13,8% (22/159).

A concomitância do diagnóstico filarial e de parasitose intestinal se deu em 9,4% (15/159) e 31,5% (50/159) dos alunos eram isentos de ambas as parasitoses. Oitenta e sete (54,7%) indivíduos apresentaram coproparasitológico positivo e pesquisa filarial negativa, e sete (4,4%) tiveram exame coprológico negativo e filaria positivo.

Entre os indivíduos com parasitoses intestinais 45% (46/102) eram poliparasitados. A presença de geohelmintíase ocorreu em 72,5% (74/102) desses, sendo o *A. lumbricoides* e o *T. trichiura* os mais prevalentes. Já a maioria dos casos de *Ancilostomidae*, *Enterobius vermicularis* e *Strongyloides stercoralis* ocorreu entre os poliparasitados. Dois casos de *Schistosoma mansoni* e um de *Taenia* sp foram diagnosticados exclusivamente entre os poliparasitados. A prevalência de protozoários intestinais foi de 51% (52/102), sendo que entre os Sarcomastigophora a *Giardia lamblia* foi a mais encontrada (Tabela 1).

Em relação ao diagnóstico de filariose, dos 22 casos diagnosticados pelo ICT quando avaliados pela pesquisa de microfilárias (em 10 mL de sangue), 20 foram negativos e dois positivos. Dessa forma, a prevalência de microfilaremia foi de 1,2% (2/159), com parasitemia de 5mf/3mL e 25mf/mL. Já entre as 137 crianças que foram negativas no teste rápido, 118 delas também realizaram o exame de filtração noturna, certificando-se a ausência de infecção filarial. A análise da distribuição do percentual de filariose, segundo faixa etária e sexo, demonstra que a ocorrência da parasitose foi maior no sexo masculino (Tabela 2), entretanto, esta diferença por sexo não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

A Tabela 2 descreve no grupo de crianças com teste rápido filarial positivo a avaliação dos coproparasitológicos e demonstra a ocorrência de geohelminíase de 54,5% (12/22), sendo o *A. lumbricoides* o mais frequente. Já os casos de *Ancilostomidae* e *S. stercoralis* foram identificados exclusivamente entre os poliparasitados. Nenhum caso de *E. vermicularis*, *S. mansoni* e *Taenia* sp foi diagnosticado. A ocorrência de protozoários intestinais para o total dessas crianças foi de 36,4% (8/22), sendo a *Giardia lamblia* a mais encontrada.

Discussão

A filariose linfática e as geohemintíases são duas das sete mais prevalentes DN entre as infecções crônicas do mundo¹⁶. Por outro lado, existe um reconhecimento uniforme de que as DN não ocorrem isoladas e, em muitos países existe uma sobreposição geográfica de populações poliparasitadas com um ou mais geohelmintos, esquistossomose e vermes filariais¹⁷⁻¹⁹, particularmente entre as populações mais pobres²⁰ situação que afeta adversamente o crescimento na infância e sua aptidão física.

A frequência de infecção filarial quando detectada unicamente através da pesquisa de microfilárias foi baixa (1,2%) e quando associada à investigação pelo ICT aumentou para 13,8%. O uso da primeira técnica como único instrumento para detecção de infecção filarial pode levar a um subdiagnóstico em indivíduos com carga parasitária baixa (como é o perfil epidemiológico da infecção em crianças) bem como em indivíduos infectados, porém amicrofilarêmicos (infecção críptica)²¹, mas que têm o potencial para contribuir para a futura transmissão¹⁵. O ICT é mais sensível que a pesquisa de microfilárias e consegue detectar antígenos de vermes adultos de *W. bancrofti*, sendo atualmente indicado como o método diagnóstico de escolha no mapeamento da distribuição, bem como para a verificação da eliminação da filariose linfática¹⁵.

A faixa etária estudada é historicamente considerada como um grupo com prevalência de infecção mais baixa do que em adultos jovens²². Fato atualmente atribuído às limitações das técnicas anteriormente utilizadas (pesquisa de microfilária), pelas manifestações subclínicas nos estágios iniciais da infecção levando a uma dificuldade de identificação e consequentemente à uma sub-representação de crianças nos inquéritos epidemiológicos²³. Associado a esses fatores, a Secretaria de Saúde de Olinda embora ainda não houvesse implantado o tratamento coletivo na área de estudo, já realizava como rotina a investigação e

tratamento individual, o que deve ter colaborado com a baixa frequência de infecção filarial na área.

A ocorrência de parasitose intestinal foi elevada (64,2%) com poliparasitismo em 45% deles. Observou-se a predominância de helmintos, confirmando que as geohelmintíases ainda representam relevante problema de saúde²³. Entre os helmintos os maiores percentuais foram de *A.lumbricoides* e *T. trichiura*, a exemplo do que tem sido demonstrado em outra investigação realizada no Brasil²³.

A concomitância das duas parasitoses esteve presente em quase 10%. A avaliação da associação entre helmintos intestinais e infecção filarial na área estudada fica limitada, pois além da baixa frequência da infecção filarial a distribuição dos dois agravos em relação à idade é diferente: enquanto a prevalência e intensidade de *A.lumbricoides* e *T. trichiura* tende a se elevar em crianças pré-escolares, atingir seu pico em escolares e declinar na idade adulta, na filariose linfática a prevalência da infecção relacionada à idade atinge seu pico na idade adulta⁴. Essa dificuldade de estudos comparativos entre países, do número de indivíduos afetados pela filariose linfática e helmintíases foi anteriormente identificada e justificada por causa das diferentes técnicas epidemiológicas utilizadas pelos pesquisadores⁴.

Devido à sobreposição geográfica das endemias, têm sido propostas estratégias integradas de eliminação ou controle de DN, em especial para os países da África subsaariana, com a administração de uma combinação de medicamentos com efeitos terapêuticos para múltiplos parasitas²⁴.

A OMS, em 1997, iniciou um programa global para a eliminação da filariose como um problema de saúde pública até o ano de 2020²⁵ e um dos componentes da estratégia consiste em interromper a transmissão da infecção através do tratamento coletivo de toda população de áreas de risco. O tratamento proposto da associação de duas drogas (dietilcarbamazina e albendazol) asseguraria a cobertura universal do tratamento da filariose linfática e

geohelmintíase, reconhecidos como coendêmicos. Essa estratégia simplifica o tratamento, aumenta a aderência e pode ser facilmente acomodada em redes existentes de cuidados primários de saúde, sem excesso de sobrecarregá-las²⁶.

Em comunidades coendêmicas, programas de controle da filariose linfática que usam terapia combinada são susceptíveis de garantir maior adesão do que a terapia de droga única devido aos seus benefícios mais óbvios, como a expulsão de lombrigas visível²⁷. Em uma revisão sistemática que avaliou o uso do albendazol no tratamento e controle da filariose linfática, concluiu que o efeito do albendazol contra parasitas filariais merece uma investigação mais rigorosa, no entanto, observou que outros benefícios à saúde derivados do uso de albendazol pode melhorar a adesão ao tratamento coletivo para filariose²⁸. Adicionalmente, vários programas com tratamento coletivo que incluiu albendazol para o controle de filariose linfática mostraram resultar em significativos e contínuos declínios na prevalência de infecções por helmintos²⁹.

Efeitos adversos que poderiam impedir a associação do albendazol tais como quadros de semioclusão não foram relatados como também não há evidência de reações adversas adicionais quando comparado com o tratamento com a dietilcarbamazina isolada. Em países como a Indonésia, onde a prevalência da infecção por helmintos intestinais é bastante alta, o uso da combinação dietilcarbamazina vs albendazol, no programa de controle da filariose linfática levou a um impacto adicional no programa de controle de helmintos intestinais³⁰.

Dessa forma, os resultados aqui apresentados confirmam a associação de geohelmintos e filariose linfática o que deve levar as Secretarias de Saúde da Região Metropolitana do Recife, junto com o Ministério da Saúde a rediscutir a associação do albendazol com dietilcarbamazina em áreas a serem implantadas o tratamento coletivo, como uma estratégia integrada de enfrentamento das duas endemias.

Referências

1. Mathers CD, Gore FM, Patton GC, Ferguson J, Sawyer SM. Global burden of disease in young people aged 10 - 24 years - Authors' reply. *Lancet*. 2012;9710:28.
2. Hotez PJ. Neglected Infections of Poverty in the United States of America. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;6:256.
3. Streit T, Lafontant JG. Eliminating lymphatic filariasis: a view from the field. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1136:53-63.
4. Padmasiri EA, Montresor A, Biswas G, de Silva NR. Controlling lymphatic filariasis and soil-transmitted helminthiasis together in South Asia: opportunities and challenges. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006;9:807-10.
5. World Health Organization. First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva; 2010.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. Brasília; 2011.
7. Pernambuco. Secretaria de Saúde. Plano para redução e eliminação das doenças negligenciadas no estado de Pernambuco 2011-2014. Pernambuco; 2011.
8. Freitas H, Veira JB, Braun R, Medeiros Z, Rocha EMM, Aguar-Santos A. et al. Workshop para avaliação da situação epidemiológica da filariose linfática no Município de Belém, Pará, norte do Brasil. *Rev Soc Brasil Med Trop*. 2008;2:212-16.
9. World Health Organization. Integrated preventive chemotherapy for neglected tropical diseases: estimation of the number of interventions required and delivered, 2009–2010. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012;2:17–28.

10. World Health Organization. Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers. Geneva; 2006.
11. World Health Organization. Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. Wkly Epidemiol Rec. 2006;81:221-32.
12. Medeiros Z, Gomes J, Béliz F, Coutinho A, Dreyer P, Dreyer G. Screening of army soldiers for *Wuchereria bancrofti* infection in the metropolitan Recife region, Brazil: Implications for epidemiological surveillance. Trop Med and Int Health. 1999;7:499-505.
13. Rocha ACB, Marcondes M, Nunes JRV, Miranda T, Veiga J, Araújo P, et al. Programa de controle e eliminação da filariose linfática: uma parceria da secretaria de saúde de Olinda-PE, Brasil, com o Serviço de Referência Nacional em Filarioses. Rev Patol Trop. 2010;3:233-49.
14. IBGE. Censo demográfico, 2010. Rio de Janeiro, 2010.
15. Weil GJ, Lammie PJ, Weiss N. The ICT filariasis test: a rapid-format antigen test for diagnosis of bancroftian filariasis. Parasitol Today. 1997;10:401-4.
16. Hotez P. Measuring Neglect. PLoS Negl Trop Dis. 2007;2:118.
17. Hotez P, Bethony J, Brooker S, Albonico M. Eliminating neglected diseases in Africa. Lancet. 2005;9477:18-24.
18. Lammie PJ, Fenwick A, Utzinger J. A blueprint for success: Integration of neglected tropical disease control programmes. Trends Parasitol. 2006;7:313-21.
19. Fenwick A, Molyneux D, Nantulya V. Achieving the Millennium Development Goals. Lancet. 2005;365:1029-30.

20. Raso G, Utzinger J, Silué KD, Ouattara M, Yapi A, Toty A, et al. Disparities in parasitic infections, perceived ill health and access to health care among poorer and less poor schoolchildren of rural Côte d'Ivoire. *Trop Med Int Health*. 2005;1:42-57.
21. Mandal NN, Bal MS, Das MK, Achary KG, Kar S.K Lymphatic filariasis in children: age dependent prevalence in an area of India endemic for *Wuchereria bancrofti* infection. *Trop Biomed*. 2010;1:41-6.
22. Witt C, Ottesen EA. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. *Trop Med Int Health*. 2001;8:582-606.
23. Fonseca EOL, Teixeira MG, Barreto ML, Carmo EH, Costa MCN. Prevalência e fatores associados às geo-helmintíases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros. *Cad. Saúde Públ*. 2010;1:143-52.
24. Molyneux DH, Hotez PJ, Fenwick A. "Rapid-Impact Interventions": How a Policy of Integrated Control for Africa's Neglected Tropical Diseases Could Benefit the Poor. *PLoS Med*. 2005;11:336.
25. Ottesen EA, Duke BO, Karam M, Behbehani K. Strategies and tools for the control/elimination of lymphatic filariasis. *Bull World Health Organ*. 1997;6:491-503.
26. Taylor MJ, Turner PF. Control of lymphatic filariasis. *Parasitol Today*. 1997;13:85-6.
27. Mani TR, Rajendran R, Munirathinam A, Sunish IP, Md Abdullah S, Augustin DJ, et al. Efficacy of co-administration of albendazole and diethylcarbamazine against geohelminthiasis: a study from South India. *Trop Med Int Health*. 2002;6:541-8.

28. Critchley J, Addiss D, Ejere H, Gamble C, Garner P, Gelbland H. Albendazole for the control and elimination of lymphatic filariasis: systematic review. *Trop Med Int Health*. 2005;10:818-25.
29. Oqueka T, Supali T, Ismid IS, Purnomo, Rückert P, Bradley M, et al. Impact of two rounds of mass drug administration using diethylcarbamazine combined with albendazole on the prevalence of *Brugia timori* and of intestinal helminths on Alor Island, Indonesia. *Filaria J*. 2005;4:5.
30. Supali T, Ismid IS, Rückert P, Fischer P. Treatment of *Brugia timori* and *Wuchereria bancrofti* infections in Indonesia using DEC or a combination of DEC and albendazole: adverse reactions and short-term effects on microfilariae. *Trop Med Int Health*. 2002;10:894-901.

Tabela 1 - Parasitoses intestinais em crianças e adolescentes escolares de Olinda, Pernambuco, 2009-2010.

Parasitose intestinal	N	%
Positivo	102	64,2
Negativo	57	35,8
Total	159	100
Monoparasitado		
Nematoda ¹	33	32,3
Sarcomastigophora ²	22	21,6
Platyhelminthes ³	1	1
Poliparasitado		
Nematoda ¹	12	11,8
Sarcomastigophora ²	4	3,9
Sarcomastigophora ² + Platyhelminthes ³	1	1
Nematoda + Sarcomastigophora ²	22	21,6
Nematoda + Platyhelminthes ³	4	3,9
Nematoda + Sarcomastigophora ² +Platyhelminthes ³	3	2,9
Total	102	100

¹ - *Ascaris lumbricoides*; *Ancylostomidae*; *Enterobius vermicularis*; *Strongyloides stercoralis* e *Trichuris trichiura*

² - *Endolimax nana*; *Entamoeba coli*; *Cisto do complexo histolytica* e *Giardia lamblia*

³ - *Hymenolepis nana*; *Schistosoma mansoni*; *Taenia sp.*

Tabela 2 - Parasitoses intestinais em crianças e adolescentes com infecção filarial por ICT em Olinda, Pernambuco. 2009-2010.

Parasitose intestinal	n (%)	Idade	Sexo	
		Média	M	F
Positivo	15 (68,2)	7,4	11	4
Negativo	7 (31,8)	9,7	5	2
Total	22	8,2	16	6
Monoparasitado	4	6,7	2	2
<i>T. trichiura</i>	2	6,0	1	1
<i>G. lamblia</i>	2	7,5	1	1
Poliparasitado	11	7,6	9	2
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i>	1	7	1	-
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , <i>S. stercoralis</i>	1	5	1	-
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , <i>Ancylostomidae</i>	1	9	1	-
<i>A. lumbricoides</i> , <i>G. lamblia</i>	3	8,7	2	1
<i>A. lumbricoides</i> , <i>E. histolytica</i>	1	8	0	1
<i>A. lumbricoides</i> , <i>E. coli</i>	1	6	1	-
<i>A. lumbricoides</i> , <i>H. nana</i>	1	9	1	-
<i>T. trichiura</i> , <i>H. nana</i>	1	8	1	-
<i>E. coli</i> , <i>E. histolytica</i> , <i>G. lamblia</i>	1	6	1	-

CAPÍTULO 6



Artigo 3:**RESPOSTA ALÉRGICA NA INFECÇÃO FILARIAL
BANCROFTIANA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES****Autores:** AGUIAR-SANTOS, Ana Maria¹**SARINHO, Emanuel S. C².***3- Doutoranda de Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)**Pesquisadora do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães –CPqAM/Fiocruz-PE**4- Professor associado da Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente e Coordenador da Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)*

RESUMO

Introdução: A filariose linfática (FL) é uma parasitose crônica com longa persistência no organismo e a maioria dos indivíduos infectados exibe poucas manifestações clínicas pela capacidade de modulação do sistema imune do hospedeiro, tornando-o por longo tempo tolerante ao parasito. Esta imunomodulação secundária à parasitose talvez predisponha o hospedeiro a menor resposta frente a outros antígenos não-filariais.

Objetivo: Verificar a resposta alérgica na infecção filarial, comparando o perfil de eosinófilos periféricos, níveis de IgE Total, reação de hipersensibilidade imediata e níveis das citocinas IL-4 e IL-5 em crianças e adolescentes de área endêmica de FL.

Métodos: Estudo do tipo exploratório com infantes em idade inferior a 19 anos, investigados quanto à infecção filarial (microfilaremia) e doença alérgica (questionário clínico) e distribuídos nos grupos: I- com infecção filarial e sem doença alérgica II-sem infecção filarial e com doença alérgica III- sem infecção filarial e sem doença alérgica. Realizou-se o teste de reatividade cutânea a antígenos de ácaros, de fungos, de baratas e de pelos de gato e de cão, bem como a contagem de eosinófilos e dosagem sérica de IgE total, bem como a dosagem de IgE específica aos mesmos aeroalérgenos. A produção de citocinas mediante cultura de sangue total estimulada por antígenos de *Dermatophagoides pteronyssinus*, PPD, e mitógenos (controle positivo) foi avaliada e comparada entre os grupos. **Resultados:** A idade dos participantes variou de 4-15 anos, com média de 12,1, 8,2 e 8,7 respectivamente nos grupos I, II e III e com diferença estatística entre as médias dos grupos ($p < 0.001$). Houve predomínio pelo gênero masculino (53.3%), porém sem diferença estatística. A carga parasitária dos microfilarêmicos (Grupo I) variou de 1mf/ml a 178mf/ml com média de 22,75 mf/ml. Em todos os grupos observou-se hipereosinofilia e níveis elevados (≥ 400 UI/dL) de IgE total ($p > 0.05$). O teste de hipersensibilidade imediata foi positivo em 56,6% dos avaliados e com predominância de positividade para os ácaros. Não houve diferença estatística entre os grupos na frequência de pacientes com teste cutâneo positivo a pelo menos um dos nove antígenos testados. O grupo com infecção filarial apresentou resposta semelhante ao teste de hipersensibilidade em comparação ao grupo dos alérgicos. Na cultura de sangue total estimulado por *D. pteronyssinus*, a média de produção de IL-4 não apresentou diferença estatística entre os três grupos. Já a produção de IL-5 com o mesmo estímulo foi maior no grupo de alérgicos ($p < 0,05$).

Conclusões: A avaliação da resposta humoral e celular no grupo com FL foi semelhante aos outros grupos do estudo. A baixa carga de microfilaremia e a semelhança da origem dos

indivíduos de todos os grupos, com provável exposição prévia a outras infecções parasitárias, pode ter colaborado pela uniformidade de resposta imune entre os grupos. Identifica-se a necessidade do estudo de outras citocinas (IL-10, IFN- γ e TGF- β) para a melhor compreensão do fenômeno.

Palavras-chave: Alergia. Citocinas. Eosinófilos. Filariose linfática. Imunomodulação. Parasitoses intestinais. Testes cutâneos.

ABSTRACT

Introduction: Lymphatic filariasis (LF) is a chronic parasitosis with long permanence in the body and most of infected subjects exhibit fewer clinical manifestations due to the ability of parasite to modulate the immune system of host, turning it tolerant to the parasite for a long term. This immunomodulation secondary to parasitic infection may predispose the host to be less responsive to other non-filarial antigens. **Aims:** To verify the allergic response in filarial infection, comparing the profile of peripheral eosinophils, total IgE levels, immediate hypersensitivity reaction as well as IL-4 and IL-5 levels in children and adolescents from an endemic area of LF. **Methods:** Exploratory study with infants under the age of 19 years, investigated for filarial infection (microfilaraemia) and allergic disease (clinical questionnaire) and distributed into groups: I- presence of filarial infection and absence of allergic disease, II- absence of filarial infection and presence of allergic disease, and III – absence of filarial infection and allergic disease. We carried out the test skin reactivity to antigens of house dust mites, mold, cockroaches and cat's and dog's hair, plus the eosinophil count and serum total IgE, as well as the measurement of specific IgE to these allergens. Cytokine *in vitro* production by culture of whole blood stimulated with antigens, *Dermatophagoides pteronyssinus*, PPD, and mitogens (positive control) were also assessed. **Results:** The age of subjects ranged from 4-15 years, mean 12.1, 8.2 and 8.7 respectively for groups I, II and III with a statistical difference among them ($p < 0.001$). There is no statistical difference in gender, despite a male predominance (53.3%). The parasite load of microfilariae (Group I) ranged from 1 to 178 mf/ml (mean 22.7 mf/ml). In all groups there was hypereosinophilia and high levels (> 400 IU/dL) of total IgE ($p > 0.05$). The immediate hypersensitivity test was positive in 56.6% of the subjects, especially with mites. There was no statistical difference between groups in the frequency of subjects with positive skin test to at least one of the nine antigens. The group with filarial infection showed similar responses to the hypersensitivity test in comparison to the allergic group. In culture of whole blood stimulated by *D. pteronyssinus*, the average IL-4 production showed no statistical difference among the groups whereas the IL-5 production by the same stimulus was higher in the allergic one ($p < 0.05$). **Conclusions:** The profile of humoral and cellular responses in the LF group was similar in all groups studied. The low load of microfilaraemia and the similarity in the origin of subjects from all groups, with a probable previous exposure to other parasitic infections, may have collaborated for the uniformity of the immune response between the

groups. Thus, it sounds reasonable to study the profile of other cytokines (IL-10, IFN- γ and TGF- β) to a better understanding of the LF immunomodulation phenomenon.

Key words: Allergy. Allergen skin test reactivity. Cytokine. Eosinophil. Immunomodulation. Intestinal helminths. Lymphatic filariasis.

1. Introdução

A prevalência de infecções helmínticas parasitárias tem declinado em países industrializados e, por outro lado, nas últimas duas a três décadas tem-se observado um significativo aumento na prevalência de doenças auto-imunes e alérgicas nessas regiões. O número de pessoas que sofrem de asma progressivamente se eleva⁽¹⁻³⁾. No entanto, existe uma consideravelmente menor prevalência de doenças alérgicas em países em desenvolvimento, bem como se detecta diferenças claras na prevalência de alergia entre áreas rurais e urbanas dentro de um mesmo país⁽⁴⁾.

Essas observações despertaram um crescente interesse no estudo da relação entre parasitoses e alergia⁽⁵⁻¹⁰⁾ e cogita-se a hipótese que os dois fenômenos estejam inversamente associados⁽⁵⁻¹⁰⁾. Contudo, até o momento, essa relação ainda permanece incerta.

Para explicar essas observações, fatores ambientais associados ao estilo de vida industrializado e urbano têm sido estudados intensivamente, mas existem poucas evidências consistentes que impliquem claros fatores de risco - como aumento da exposição aos alérgenos domiciliares, poluição ou mudanças na dieta e amamentação - que poderiam explicar o aumento na doença atópica⁽¹¹⁾. No entanto outra categoria de fatores ambientais, como infecções helmínticas mostra uma importante e consistente associação negativa com doenças alérgicas e atopia⁽¹¹⁾.

As infecções helmínticas e as doenças alérgicas são caracterizadas por apresentarem indução da resposta imune Th2 e produção elevada de IgE, com isso vários mecanismos têm sido postulados buscando explicar a associação negativa entre essas doenças. Além disso, tem sido demonstrado que parasitos induzem a um conjunto de mecanismos imunes regulatórios no organismo parasitado que facilitam a sobrevivência do parasito e causa um grande impacto na evolução da resposta imune à auto-antígenos, alérgenos, **coinfeções** e vacinas, o que poderá proporcionar redução de doenças alérgicas⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Doenças atópicas e infecções helmínticas são associadas com aumento da produção de citocinas tipo Th2, eosinofilia e aumento dos níveis de IgE. Contudo, a interação entre infecção helmíntica e resposta imune na doença atópica não é muito compreendida⁽¹²⁾.

Já foi demonstrado que indivíduos residentes em área endêmica de *Ascaris lumbricoides* apresentavam baixa frequência de positividade ao testes de hipersensibilidade cutânea a alérgenos domiciliares⁽¹⁵⁾ e que após o tratamento para essa infecção parasitária, ocorria um aumento na frequência de positividade ao teste cutâneo⁽¹⁶⁾. Também já foi evidenciado que existe uma inversa associação entre a frequência de testes cutâneos de

hipersensibilidade e a carga parasitária por *Schistosoma mansoni*⁽¹⁷⁾. Em uma área endêmica do Brasil, a reação de hipersensibilidade imediata e os níveis de IgE específicos a aeroalérgenos em presença de infecção por *S.mansoni* foram avaliados e identificou-se que a proporção de indivíduos com testes cutâneos positivos a pelo menos um dos sete aeroalérgenos testados era aproximadamente 5 vezes menor no grupo de pessoas infectadas com este parasita (4,8% versus 24.3%)⁽¹⁷⁾.

A filariose linfática é uma infecção parasitária causada pela *Wuchereria bancrofti* e endêmica no Brasil, apenas na região metropolitana do Recife (RMR)-PE (Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda)⁽¹⁸⁾. Trata-se de uma infecção helmíntica crônica e também caracterizada pela longa permanência do parasito no hospedeiro. Com o conhecimento sobre a doença esquistossomótica com relação a sua habilidade de desencadear respostas imunes protetoras após um longo tempo de exposição, e comparando com a infecção pela *W. bancrofti* por sua semelhante característica de cronicidade e também com um perfil de resposta imune Th2, pode-se levantar a possibilidade de que a infecção filarial tenha também habilidade de desencadear respostas imunes protetoras.

Assim, a ausência desse conhecimento particularmente em crianças infectadas pela *W. bancrofti*, levou a esse estudo que tem como objetivo avaliar a resposta alérgica na infecção filarial, comparando o perfil de eosinófilos periféricos, níveis de IgE Total, reação de hipersensibilidade imediata e níveis de citocina IL-4 e IL-5 em crianças e adolescentes de área endêmica de filariose linfática.

2. Material e métodos

Trata-se de um estudo do tipo exploratório que foi desenvolvido com crianças e adolescentes com idade inferior a 15 anos e oriundos de áreas endêmicas de filariose linfática no Brasil. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CPqAM (Parecer 126/2008) e todos os pais ou responsáveis e os sujeitos da pesquisa assinaram previamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Todos os sujeitos da pesquisa com infecção filarial e com parasitoses intestinais diagnosticados na triagem receberam tratamento específico.

Foram compostos três grupos para análise. Grupo I- Com infecção filarial e sem doença alérgica; Grupo II- Sem infecção filarial e com doença alérgica e Grupo III- Sem infecção filarial e sem doença alérgica. Considerou-se como critérios de exclusão: uso de droga antifilarial nos últimos 24 meses; uso de corticosteroide nos últimos 30 dias; uso de

antihistamínico nos últimos 10 dias e presença dos helmintos intestinais: *Ascaris lumbricoides*, *Ancilostomatidae*, *Trichuris trichiura*, *Schistosoma mansoni* e *Strongyloides stercoralis*.

Para a comparação de proporções entre os grupos quanto ao resultado de testes cutâneos para aeroalérgenos, admitindo-se uma proporção de 15% de positividade no grupo não-asmático e de 80% de positividade no grupo asmático, segundo resultados do estudo de Godinho et al.⁽¹⁹⁾, utilizando-se o programa STATA 9.1., com o alfa=0,05 (bicaudal), um poder = 90% e uma razão (grupo1/grupo2) = 1, foi obtido um tamanho amostral de ≥ 14 indivíduos para cada grupo.

Para sua locação em um dos três grupos, os indivíduos foram submetidos a três exames de triagem: (1) Investigação de parasitos intestinais pelo método de Hoffmann, Pons e Janer⁽²⁰⁾ em três amostras de fezes coletadas em diferentes dias (2) Investigação de infecção filarial pelas técnicas: de filtração em membrana em sangue venoso, coletado no horário entre 2300h e 100h⁽²¹⁾, a pesquisa de antígeno com o teste rápido por Imunocromatografia (ICT Binax, NOW)⁽²²⁾ e pelo ELISA- Og4C3⁽²²⁾, e a pesquisa de vermes adultos de *W. bancrofti* através de ultrasonografia⁽²³⁾. Considerou-se como portador de infecção filarial a microfilaremia, enquanto os não-portadores de infecção deveriam apresentar exames negativos nas quatro técnicas (3) Investigação de doença alérgica, identificados através de um questionário padrão construído a partir da IV Diretrizes Brasileiras para o Manejo da Asma⁽²⁴⁾, do II Consenso Brasileiro sobre Rinites⁽²⁵⁾ e Guia Prático para o Manejo de Dermatite Atópica de especialistas em alergologia⁽²⁶⁾ para a definição clínica de casos de Asma, Rinite e Dermatite respectivamente. Foram considerados como portadores de doença alérgica aqueles com sintomas nos últimos 12 meses.

Os indivíduos presentes nos três grupos realizaram teste de hipersensibilidade imediata, IgE sérica total, contagem de eosinófilos e resposta de imunidade celular. O teste cutâneo (Skin-prick tests-SPT) foi aplicado para avaliar a hipersensibilidade imediata com estratos antigênicos produzidos pela FDA ALLERGENIC⁽²⁷⁾: Antígenos de ácaros (*Blomia tropicalis*, *Dermatophagoides farinae* e *Dermatophagoides pteronyssinus*); Antígenos de fungos (*Aspergillus fumigatus*, *Penicillium notatum* (var. *crhysogenum*)); pelo de gato e de cão e antígeno de inseto (*Blattella germânica* e *Periplaneta americana*) e como controle positivo e negativo, utilizou-se histamina a 1% e solução salina, respectivamente. Considerou-se como

positivo o teste cujo diâmetro da circunferência da pápula observada foi maior ou igual a 3mm do que a observada no controle.

Para a IgE sérica total foi utilizada a técnica de Imuno-CAP (Pharmacia, Suécia)⁽²⁸⁾, considerando-se como ponto de corte o valor $>$ de 400 UI/dL, conforme ponto de corte estabelecido em nosso meio⁽²⁹⁾. A contagem de eosinófilos periféricos feita pelo método direto⁽³⁰⁾, considerando-se ≥ 500 eos/mm³ como hipereosinofilia⁽³¹⁾. Na avaliação da resposta imune celular realizou-se a dosagem das citocinas IL-4 e IL-5 de acordo com as recomendações do kit “Quantikine” imunoensaio humano (R & D systems).

Pela dificuldade atual de encontrar-se crianças microfilarêmicas e para complementar a resposta imediata foram utilizados em sete indivíduos do grupo I, a dosagem de IgE específica em soro para os mesmos aeroalérgenos descritos no teste cutâneo, exceto para *Penicillium notatum* e *Periplaneta americana* sendo utilizado o método enzima imunoensaio Pharmacia UniCAP System (Pharmacia Upjohn Uppsala, Suécia)⁽²⁸⁾ e considerou-se como positiva níveis de IgE específica $\geq 0,35$ UI/dL (classe 1)^(27,32).

Na avaliação da resposta imune celular realizou-se a dosagem das citocinas IL-4 e IL-5 através de ELISA, de acordo com as recomendações do kit “Quantikine” imunoensaio humano (R & D systems), utilizando cultura de sangue total estimulado com *D. pteronyssinus*, PMA/Iono, PPD e não estimulado^(33,34).

Os dados foram digitados em dupla entrada no programa EpiInfo versão 7 e analisados fazendo uso da estatística descritiva por meio de distribuição de frequências, medidas de tendência central e dispersão e gráficos. Foi utilizado o teste de Kolmogorov - Smirnov. Para as comparações de médias dos IL4, IL5 e das outras variáveis quantitativas por grupos, foi utilizado o teste de Kruskal – Wallis seguido do teste de Mann – Whitney para comparações dois a dois. Para comparações entre variáveis qualitativas foram utilizados os testes: testes χ^2 e exato de Fisher. Em todos os testes foi adotado um nível de significância de 5%. Ou seja, as comparações são consideradas significantes se o p-valor $< 0,05$.

3. Resultados

Após a investigação das parasitoses intestinais, aplicação dos questionários de doença alérgica e investigação de infecção filarial foram alocadas 60 crianças e adolescentes, distribuídos em 20 casos em cada um dos três grupos.

A tabela 1 descreve que a participação geral dos pesquisados teve um predomínio do sexo masculino com 55% (33/60). Comparando-se a frequência do sexo entre os grupos não houve diferença estatisticamente significativa. A idade variou de 4 a 15 anos, com uma média geral de 9,7 anos. No Grupo I, II e III as idades-médias foram respectivamente: 12,1, 8,2 e 8,8 ($p < 0,001$).

No grupo I a carga parasitária dos infectados (microfilaremia) variou de 1mf/ml a 178mf/ml com uma média de 22,75 mf/ml. No Grupo II foram alocadas os 20 casos com doença alérgica referida, dos quais 35% (7/20) foram considerados como asmáticos, asmáticos associados a rinite 35% (7/20) e rinite 30% (6/20). Nenhum caso foi identificado com dermatite atópica.

Quanto à contagem de eosinófilos periféricos, os três grupos apresentaram médias superiores a 500 eosinófilos/mm³, sendo respectivamente de 547,5 eosinófilos/mm³, 547,5 eosinófilos/mm³ e 785 eosinófilos/mm³ nos grupos I, II e III e sem diferença estatística entre eles. O percentual de indivíduos com hipereosinofilia foi respectivamente de 50%, 45% e 60% nos grupos I, II e III sendo essa diferença não significativa. A avaliação geral dos níveis de IgE sérica total, evidenciou que 57,6% (34/59) apresentaram níveis superiores a 400 UI/dL e esses níveis foram de 42,1 %, 75% e 55% respectivamente nos Grupos I, II e III e sem diferença estatística.

O teste de hipersensibilidade foi positivo em 56,6% (34/60), sendo essa frequência de 65% (13/20), 65% (13/20) e 40% (8/20) respectivamente nos grupos I, II e III. Não se observou também diferença estatística entre os grupos. Nos três grupos, o maior percentual de hipersensibilidade positiva foi aos Ácaros (*B.tropicalis*, *D. pteronyssinus* e *D. farinae*) e o grupo de alérgenos de pelo de cão e de gato apresentou o menor percentual com apenas dois indivíduos positivos (Tabela 2).

Ao avaliar a resposta imune no grupo de indivíduos com infecção filarial comparados com o grupo de não-infectados observou-se que a produção de IL-4 na cultura de sangue sem estímulo e com os estímulos de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt), PPD, e mitógenos (PMA) foi semelhante entre os grupos (Figura 1). Não se observou diferença estatisticamente significativa entre a média dos grupos ($P > 0,05$) segundo a Tabela 3. A produção de IL-5 quando estimulada por *D. pteronyssinus* apresentou média superior e significativa no grupo de alérgicos ($p=0,02$) (Figura 2 e Tabela 4)

Discussão

Embora vários estudos relatem uma relação inversa entre infecções helmínticas e reatividade aos testes cutâneos (SPT) a alérgenos ambientais, a infecção filarial por *W. bancrofti* ainda não havia sido estudada sob este aspecto⁽³⁵⁾. No entanto, há descrição de forte associação inversa entre outra filaria, não linfática, a *Mansonella perstans* e a resposta a teste cutâneos em mulheres de Uganda⁽³⁶⁾. No presente estudo, não se observou diferença entre a proporção de indivíduos com infecção filarial e positividade aos testes de hipersensibilidade quando comparados com indivíduos não infectados.

A população foi composta por crianças e adolescentes de uma área endêmica de filariose e a distribuição da idade apresentou média ligeiramente superior no grupo com infecção filarial. No que diz respeito aos sexos os grupos foram estatisticamente semelhantes.

Os indivíduos microfilarêmicos (Grupo I) apresentaram uma baixa carga parasitária (média de 22,7 mf/ml), dado compatível com o descrito na literatura que crianças apresentam prevalência da infecção e carga parasitária menor do que em adultos jovens⁽³⁷⁾, associado ao fato da implantação do programa de eliminação da filariose na Região Metropolitana do Recife através do tratamento coletivo com dietilcarbazona e que tem levado uma queda importante da transmissão local da infecção⁽³⁸⁾.

Embora tenha sido considerada como critério de exclusão a presença de parasitoses intestinais nos três grupos, sabe-se que a população estudada é pobre e oriunda de áreas com baixas condições socioeconômicas e sujeitas a precárias condições ambientais, portanto já submetidos a infecções parasitárias e por outros agentes durante toda sua vida.

Nos três grupos estudados a predominância de hipereosinofilia foi elevada e maior que 45% não se encontrando uma diferença com significância estatística. O achado de eosinofilia é comum em países em desenvolvimento e é principalmente causado por infecções helmínticas crônicas e recorrentes, particularmente as intestinais⁽³⁹⁾. A eosinofilia em infecções helmínticas, como também em doenças alérgicas (incluindo asma) é tipicamente associada com uma pronunciada resposta imune tipo Th2 incluindo a produção de IL-4, IL5 e IL-13, como também a IgE e também a expansão e mobilização de outras células efetoras específicas como mastócitos e basófilos⁽³⁹⁾.

Na infecção filarial a presença de hipereosinofilia (geralmente superior a 3000 eos/mm³) está relacionada a quadros de eosinofilia pulmonar tropical (EPT), expressão clínica essa que é rara em crianças e que cursa invariavelmente com amicrofilaremia⁽⁴⁰⁾. No grupo

avaliado com infecção filarial não houve relato de sintomatologia compatível com EPT durante a triagem através do questionário de doenças alérgicas.

Do ponto de vista clínico a eosinofilia é um achado um tanto inespecífico e, além das infecções helmínticas pode ser visto numa grande variedade de doenças não infecciosas, tais como alergias, incluindo asma, reações de hipersensibilidade a drogas, neoplasia, doenças do tecido conjuntivo, síndromes hipereosinofílicas primárias entre outras⁽³⁹⁾. Entretanto, em áreas com alta prevalência de infecções parasitárias, a eosinofilia pode ser o primeiro ou único indício de condições com potencial de sequelas graves, como a esquistossomose ou a *estrongiloidíase*⁽³⁹⁾.

A incidência e a extensão da eosinofilia relacionada à infecção não depende apenas do tipo, intensidade e estágio da infecção, outros fatores, como diferenças individuais na resposta imune inata e adaptativa, condições epidemiológicas, idade da primeira exposição e doenças de base são também importantes. Em estudo anterior com escolares, da mesma área de origem das crianças aqui avaliadas, observou-se uma prevalência de infecção helmíntica de 64,2% e com uma concomitância de infecção filarial e parasitoses intestinais em torno de 10%⁽⁴¹⁾, o que nos permite sugerir que essa população é extensivamente exposta à infecção por parasitos intestinais. Somando-se ao fato que o valor preditivo negativo de parasitológico de fezes não seja de 100%, justificando-se assim semelhante frequência de eosinofilia entre os grupos.

Os níveis séricos de IgE total com valores superiores a 400 UI/dL esteve elevado em 57.6% dos participantes e não se observou diferença nessa prevalência entre os três grupos avaliados. Sabe-se que em países desenvolvidos a asma está associada com níveis elevados de eosinófilos e de IgE Total e que existe uma correlação entre a severidade clínica da asma e o grau de hipereosinofilia⁽⁴²⁻⁴⁵⁾. No presente estudo, no entanto observaram-se níveis elevados no considerado grupo “controle” (sem infecção filarial e sem alergia) e, pelos critérios de exclusão também isentos de parasitos intestinais. Além das infestações parasitárias muitos fatores, além de asma e atopia são conhecidos como associados ao aumento dos níveis de IgE e eosinofilia, como infecções fúngicas, doenças do colágeno, alterações hematológicas, doenças imunes e síndromes paraneoplásicas. Outra infecção parasitária, a zoonose por *Toxocara canis* também apresenta níveis elevados de IgE e eosinófilos por longo período após a infestação. Estudo em área endêmica de Filariose linfática no Brasil revelou uma frequência de 39,4% de anticorpos anti-*Toxocara* em crianças e adolescentes da Região Metropolitana do

Recife e, em 42,2% dos estudados apresentavam infecção filarial concomitante⁽³¹⁾. Ressalta-se mais uma vez a possibilidade de um sub-diagnóstico de parasitose intestinal na população do estudo ou mesmo uma persistente reação imunológica após infecção passada. Ambos as possibilidades justificam a uniformidade de níveis elevados de IgE entre os três grupos. Na Indonésia, em região de baixas condições socioeconômicas, foi demonstrado que a maioria das “crianças saudáveis” apresentavam valores marcadamente elevados de IgE e eosinófilos⁽⁴⁶⁾.

A resposta de hipersensibilidade imediata a aeroalérgenos foi predominante entre os ácaros como descrito na literatura⁽¹⁹⁾. No Brasil, estudos epidemiológicos vêm demonstrando a prevalência de duas espécies de ácaros: o *Dermatophagoides pteronyssinus* e a *Blomia tropicalis*⁽⁴⁷⁾, que se modificam dependendo das condições climáticas, da umidade, da temperatura e dos fatores nutricionais do ambiente.

A resposta de hipersensibilidade imediata foi semelhante entre o grupo com infecção filarial e os outros grupos comparativos ($p > 0,05$). Diferente do descrito em relação à infecção por *S. mansoni* que evidencia uma inversa associação entre a resposta aos testes de hipersensibilidade imediata e infecção⁽¹⁷⁾, o grupo com infecção filarial não evidenciou esse comportamento não ocorrendo, portanto uma supressão da resposta de hipersensibilidade imediata. Pode-se levantar como possibilidade para esse comportamento, a baixa carga parasitária dos indivíduos infectados como já descrito em relação ao *A. lumbricoides* quando em estudo realizado em indivíduos com carga parasitária leve a moderada⁽⁸⁾ também mostrou elevada resposta aos testes cutâneos, enquanto em outro trabalho com carga parasitária elevada foi o inverso⁽⁴⁸⁾. Adicionalmente observou-se que no grupo de pacientes infectados (Grupo I) apesar de elevada resposta aos testes de hipersensibilidade, presença de hipereosinofilia e níveis elevados de IgE total não há expressão clínica de doença alérgica talvez resultante da imunomodulação oriunda da resposta à filária. Também é importante salientar que no grupo com filaria apesar de não haver diferença estatística entre os grupos, o IL-4 e IL-5 após estimulação com DPT os níveis foram sempre menores.

A relação entre a produção de citocinas e a expressão de atopia e asma tem tido importância considerável. Existe um consenso que a doença atópica esteja associada com um déficit da resposta imune Th1 (IFN- γ) e uma predominância de resposta imune Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) o que leva a uma quebra da tolerância imunológica pelas células T regulatórias^(12,13).

No grupo com infecção filarial observou-se hipereosinofilia, níveis elevados de IgE total, resposta aos testes de hipersensibilidade, associada a uma produção de IL-4 semelhante ao grupo com doença alérgica, porém sem expressão clínica. A produção de IL-5 quando estimulada por *D. pteronyssinus* foi superior no grupo dos alérgicos quando comparado com o grupo dito “controle”,

Esse comportamento de similaridade do perfil de resposta alérgica entre os grupos trás algumas reflexões. O grupo com infecção filarial foi selecionado a partir da presença de microfilárias (uma das formas clínicas de FL, com infecção e sem expressão clínica) e incluiu indivíduos com baixa carga parasitária o que pode ter influenciado nos resultados. A exclusão da infecção filarial nos outros grupos foi feita utilizando-se quatro técnicas diagnósticas o que limita, mas não exclui a possibilidade de um falso-negativo. Por outro lado, a presença de parasitos intestinais ou mesmo a resposta imune como memória por prévias e repetidas infecções é uma possibilidade o que levaria a um “somatório” de respostas imunes. Dessa forma, identifica-se a necessidade do estudo de outras citocinas (IL-10, IFN- γ e TGF- β) para melhor compreensão dos achados.

5. Referências

1. Cookson JB. Prevalence rates of asthma in developing countries and their comparison with those in Europe and North America. *Chest*. 1987;91:97–103.
2. Burr ML, Limb ES, Andrae S, Barry DM, Nagel F. Childhood asthma in four countries: a comparative survey. *Int J Epidemiol*. 1994;23:341–7.
3. Strachan DP. The epidemiology of childhood asthma. *Allergy*. 1999;54:7–11.
4. Dagoye D, Bekele Z, Woldemichael K, Nida H, Yimam M, Hall A, et al. Wheezing, allergy, and parasite infection in children in urban and rural Ethiopia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:1369-73.
5. Davey G, Venn A, Belete H, Berhane Y, Britton J. Wheeze, allergic sensitization and geohelminth infection in Butajira, Ethiopia. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:301-7.

6. Scrivener S, Yemaneberhan H, Zebenigus M, Tilahun D, Girma S, Ali S, et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. *Lancet*. 2001;358:1493-9.
7. Nyan OA, Walraven GE, Banya WA, Milligan P, Van Der Sande M, Ceesay SM, et al. Atopy, intestinal helminth infection and total serum IgE in rural and urban adult Gambian communities. *Clin Exp Allergy*. 2001;31:1672-8.
8. Palmer LJ, Celedon JC, Weiss ST, Wang B, Fang Z, Xu X. *Ascaris lumbricoides* infection is associated with increased risk of childhood asthma and atopy in rural China. *Am J Respir Crit Care Méd*. 2002;165:1489-93.
9. Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:313-7.
10. Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin GE, et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:995-1000.
11. Von Hertzen, L.C., and Haahtela, T. Asthma and atopy—the price of affluence? *Allergy* 2004; 59, 124–137.
12. Yazdanbakhsh M, Van Den Biggelaar A, Maizels RM. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol*. 2001;22:372-7.
13. Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat. Rev. Immunol*. 2003;3:733–44.
14. Cooper PJ, Barretos MI, Rodrigues, LC. 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*. 2006;79:203–18.
15. Lynch NR, Hagel IA, Palenque ME, Di Prisco MC, Escudero JE, Corao LA, et al. Relationship between helminthic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101:217-21.

16. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol.* 1993;92:404-11.
17. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-AL, Sole D et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;123:145-8.
18. Freitas H, Veira JB, Braun R, Medeiros Z, Rocha EMM, Aguar-Santos A. et al. Workshop para avaliação da situação epidemiológica da filariose linfática no Município de Belém, Pará, norte do Brasil. *Rev Soc Brasil Med Trop.* 2008;2:212-16.
19. Godinho R, Lanza M, Godinho A, Rodrigues A, Assiz TM. Frequência de positividade em teste cutâneo para aeroalérgenos. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2003;69:824-8.
20. Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation-concentration method in schistossomiasis mansoni. *J Pub in Health Trop and Med.* 1934;9:283-98.
21. Dreyer G, Pimentel A, Medeiros Z, Béliz F, Galindo E, Moura E, et al. Studies on the periodicity and intravascular distribution of *Wuchereria bancrofti* microfilariae in paired samples of capillary and venous blood from Recife-Brazil. *Trop Med and Int Health.* 1996;2:264-72.
22. Weil GJ, Ramzy RM. Diagnostic tools for filariasis elimination programs. *Trends Parasitol.* 2007;2:78-82.
23. Amaral F, Dreyer G, Figueredo JS, Norões J, Cavalcanti A, Samico SC, Santos A, Coutinho A. Adult worms detected by ultrasonography in human bancroftian filariasis. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50:753-7.
24. IV Diretrizes Brasileiras para o Manejo da Asma. *J Bras Pneumol.* 2006;32:447-74.
25. Solé D, Melo Júnior JFM, Weckx LLM, Rosario Filho NA. II Consenso Brasileiro sobre Rinites 2006. *Rev Bras Alerg Imunopatol.* 2006;29:29-58.
26. Castro APM, Solé D, Rosário Filho NA, Jacob CMA, Rizzo MCAFV, Fernandes MFM et al. Guia Prático para o Manejo da Dermatite Atópica – opinião conjunta de especialistas

- em alergologia da Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia e da Sociedade Brasileira de Pediatria. *Rev Bras Alerg Immunopatol.* 2006;29:269-82.
27. FDA ALLERGENIC, 2008. Disponível em:
site:http://www.fda.allergenic.com.br/produtos_fda_0.6htm, acessado em 23.09.08.
28. Pharmacia CAP System The new generation of allergy testing. Disponível em http://immunocapinvitrsight.com/dia_templates?immunoCAP/PageNavRef. Acessado em 13.09.08
29. Medeiros D, Silva AR, Rizzo JA, Motta ME, Oliveira FH, Sarinho ES. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(4):255-9.
30. Lima AO, Soares JB, Greco JB, Galizzi J, Cançado JR. Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica. 6ª Ed, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1985; 429-431.
31. Aguiar-Santos AM, Andrade LD, Medeiros Z, Chieffi PP, Lescano SZ, Perez EP. Human Toxocariasis : frequency of anti-Toxocara antibodies in children and adolescents from an outpatients clinic for lymphatic filariasis in Recife, Northeast Brazil.. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2004;46:81-5.
32. Host A, Halken S. Practical aspects of allergy-testing. *Paediatr Respir Rev*. 2003;4:312-8
33. De Groot, et al. Direct stimulation of cytokines (IL-1B, TNFalpha, IFN- γ and GM-CSF) in whole blood in comparison with isolated PBMC stimulation. *Cytokine*, San Diego. 1992; 4:239 –248.
34. Montenegro SML, et al. Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni the cross-regulatory role of interferon-gamma and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. *J Infect Dis* 1999;179:1502–1514.
35. Wahyuni S. Helminth infections, allergic disorders and immune responses: studies in Indonesia. 2006. Thesis (doctoral) - Faculty of Medicine, Leiden University Medical

- Center, Leiden University, Leiden, 2006. Disponível on-line: <http://hdl.handle.net/1887/4986>. Acesso em: 18 maio 2008
36. Mpairwe H, Muhangi L, Ndibazza J, Tumussime J, Muwanga M, Rodrigues L, et al. Skin prick test reactivity to common allergens among women in Entebbe, Uganda. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102:367–73.
37. Witt C, Ottesen EA. Lymphatic filariasis: an infection of childhood. *Trop Med Int Health.* 2001;6:582–606.
38. Rocha ACB, Marcondes M, Nunes JRV, Miranda T, Veiga J, Araújo P, et al. Programa de controle e eliminação da filariose linfática: uma parceria da secretaria de saúde de Olinda-PE, Brasil, com o Serviço de Referência Nacional em Filarioses. *Rev Patol Trop.* 2010;3:233-49.
39. Löscher T, Saathoff E. Eosinophilia during intestinal infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2008;22:511-36.
40. Ottesen EA, Nutman TB. Tropical pulmonary eosinophilia. *Annu Rev Med.* 1992; 43:417-24.
41. Aguiar-Santos AM, Medeiros Z, Bonfim C, Rocha A, Brandão E, Miranda T, Oliveira P, Sarinho ESC. Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais submetido a publicação no *Jornal de Pediatria*.
42. Roufosse FE, Goldman M, Cogan E. Hypereosinophilic syndromes. *Orphanet J Rare Dis.* 2007;2:37.
43. Maizels RM, Balic A, Gomez-Escobar N, Nair M, Taylor MD, Allen JE. Helminth parasites – masters of regulation. *Immunol Ver.* 2004;201:89–116.
44. Trivedi SG, Lloyd CM. Eosinophils in the pathogenesis of allergic airways disease. *Cell Mol Life Sci* 2007;64:1269–89.
45. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000;356:2144–8.

-
46. Kartasamita CB, Rosmayudi O, Demedts M. Total serum IgE and eosinophil count in children with and without a history of asthma, wheezing, or atopy in an urban community in Indonesia. The Respiratory Disease Working Group. *J Allergy Clin Immunol.* 1994;94:981-8.
 47. Medeiros JRM, Figueiredo JP. Sensibilização a aeroalérgenos em indivíduos com asma brônquica e/ou rinite crônica em Salvador, Bahia. *Rev Bras Alergia Immunopatol.* 1997; 20:143-54.
 48. Lynch NR. Influence of socio-economic level on helminthic infection and allergic reactivity in tropical countries. In: Mosqbel R, editor. *Allergy and immunity to helminthes: common mechanisms or divergent pathways?* London: Taylor & Francis; 1992: 51-62.

Tabela 1 - Características demográficas de crianças e adolescentes de área endêmica de filariose bancroftiana, distribuição em grupos quanto a infecção filarial e doença alérgica e dados comparativos entre contagem de eosinófilos periféricos e níveis de IgE Total, Recife-PE, 2009-2010.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Valor de p
Características demográficas				
<i>Idade (anos, média \pm DP)</i>	12,1 \pm 2,49	8,2 \pm 1,74	8,68 \pm 1,80	P < 0,001 ***
<i>Sexo (%)</i>				
<i>Homens</i>	60	55	45	0,72 *
<i>Mulheres</i>	40	45	55	
Infecção Filarial				
Positividade por microfilaremia (%)	100	—	—	—
Variação (mf/ml, min - max)	1- 178	—	—	—
Média \pm DP	22,75 \pm 40,51	—	—	—
Doença alérgica (%)				
Asma (%)	—	100	—	—
Asma + Rinite (%)	—	35	—	—
Rinite (%)	—	30	—	—
Contagem de eosinófilos				
Variação (eos/mm ³ , min - max)	75 - 1500	100 - 1375	125 - 2975	
Média \pm DP (eos/mm ³)	547,50 \pm 370,71	547,50 \pm 360,09	785,00 \pm 664,88	—
Hipereosinofilia (%)	50	45	60	0,52 *
IgE				
Variação (UI/dL, min - max)	51 - 8829	90 - 5816	24 - 5314	—
Média \pm DP (UI/dL)	1687,00 \pm 2368,82	1488,00 \pm 1647,30	1083,30 \pm 1453,19	
> 400 UI/dL (%)	42,1	75	55	0,111 **

Grupo I- Infecção Filarial e sem doença alérgica

Grupo II- Sem infecção filarial e com doença alérgica

Grupo III - Sem infecção filarial e sem doença alérgica

Hipereosinofilia- Contagem de eosinófilos > 500 eos/mm³

* - Teste Exato de Fisher

** - Teste Qui Quadrado

*** - Teste de Comparação entre Médias

Tabela 2- Dados comparativos de hipersensibilidade a aeroalérgenos, entre crianças e adolescentes de área endêmica de filariose bancroftiana. Recife-PE, 2009-2010.

	Grupo I (n=20)	Grupo II (n=20)	Grupo III (n=20)	Total (n=60)	Valor de p
Hipersensibilidade a alérgenos¹					
Positividade ao teste* (%)	65 (13/20)	65 (13/20)	40 (8/20)	56,6 (34/60)	0,49
Ácaros ^{**}	50 (10/20)	60 (12/20)	40 (8/20)	50 (30/60)	0,66
<i>B. tropicalis</i> (%)	30 (6/20)	55 (11/20)	25 (5/20)	36,6 (22/60)	—
<i>D. pteronyssinus</i> (%)	25 (5/20)	35 (7/20)	15 (3/20)	25 (15/60)	—
<i>D. farinae</i> (%)	30 (6/20)	50 (10/20)	25 (5/20)	35 (21/60)	0,50
Fungos					
<i>A. fumigatus</i> (%)	25 (5/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	8 (5/60)	—
<i>P. notatum</i> (%)	23 (3/13)	15 (3/20)	0 (0/20)	11,4 (6/53)	—
Insetos					
<i>B. germânica</i> (%)	15 (3/20)	5 (1/20)	10 (2/20)	10 (6/60)	—
<i>P. americana</i> (%)	23 (3/13)	15 (3/20)	20 (4/20)	18,8 (10/53)	—
Pelo animais					
Pelo de cão (%)	5 (1/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	1,6 (1/60)	—
Pelo de gato (%)	0 (0/20)	5 (1/20)	0 (0/20)	1,6 (1/60)	—

¹Hipersensibilidade a alérgenos:

Grupo I - 13 indivíduos realizaram teste cutâneo para todos os alérgenos

7 indivíduos realizaram IgE específica para todos alérgenos de Ácaros, *A. fumigatus*, *B. germânica* e pelo de cão e de gato

Grupo II - realizaram teste cutâneo para todos os alérgenos

Grupo III - realizaram teste cutâneo para todos os alérgenos

* - Positividade - reatividade ≥ 3 mm em pelo menos um dos testes

** - Positividade- reatividade ≥ 3 mm a pelo menos 1 dos Ácaros

Tabela 3 – Estatística descritiva das médias, medianas, desvio-padrão e erro-padrão da produção de citocinas (IL-4 e IL-5) em culturas de sangue total sem estímulo (meio) e quando estimuladas por antígenos de *Dermatophagoides pteronyssinus*, PPD, e mitógenos (controle positivo) entre crianças e adolescentes de área endêmica de filariose bancroftiana. Recife-PE, 2009-2010 .

Variável	Medida	Grupo I	Grupo II	Grupo III	P-valor*	P-valor**
IL4 meio	Média	1,10	4,33	3,48	< 0,001	0,410
	Mediana	0,00	0,00	0,00		
	Erro Padrão	0,80	1,70	1,65		
	Desvio Padrão	2,88	7,58	7,39		
IL4 PPD	Média	2,76	3,41	2,74	< 0,001	0,524
	Mediana	0,00	0,00	0,00		
	Erro Padrão	2,03	1,19	1,42		
	Desvio Padrão	7,32	5,32	6,33		
IL4 DPT	Média	1,45	6,08	6,39	< 0,001	0,604
	Mediana	0,00	0,00	0,00		
	Erro Padrão	1,15	2,84	3,12		
	Desvio Padrão	4,15	12,39	13,96		
IL4 PMA	Média	0,74	7,35	6,66	< 0,001	0,390
	Mediana	0,00	0,00	0,00		
	Erro Padrão	0,74	3,28	3,65		
	Desvio Padrão	2,68	14,67	16,34		
IL5 meio	Média	1,90	0,68	1,63	< 0,001	0,167
	Mediana	0,60	0,00	0,00		
	Erro Padrão	1,01	0,20	1,46		
	Desvio Padrão	3,65	0,89	6,55		
IL5 PPD	Média	0,69	1,01	0,80	< 0,001	0,237
	Mediana	0,00	0,60	0,00		
	Erro Padrão	0,36	0,29	0,44		
	Desvio Padrão	1,31	1,29	1,99		
IL5 DPT	Média	2,03	4,58	1,59	< 0,001	0,020
	Mediana	0,00	1,21	0,00		
	Erro Padrão	1,52	2,37	1,24		
	Desvio Padrão	5,47	10,61	5,42		
IL5 PMA	Média	1,02	0,74	3,60	< 0,001	0,267
	Mediana	0,30	0,00	0,00		
	Erro Padrão	0,40	0,21	3,10		
	Desvio Padrão	1,46	0,93	13,88		

* Teste de normalidade

** Teste de comparação entre médias (Kruskal Wallis)

Grupo I – Com infecção filarial e sem doença alérgica

Grupo II- Sem infecção filarial e com doença alérgica

Grupo III – Sem infecção filarial e sem doença alérgica

Tabela 4- Comparação das médias de produção de IL-5 com estímulo DPT (IL-5 DPT) entre os grupos. Recife-PE, 2009- 2010.

Comparações	P-valor*
Grupo I x Grupo II	0,07
Grupo I x Grupo III	0,56
Grupo II x Grupo III	0,01

* Teste Mann-Whitney

Figura 1 – Valores de produção de IL-4 em cultura de sangue total sem estímulo (meio) e com estímulo de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt), PPD, e mitógenos (PMA) em crianças e adolescentes de área endêmica de filariose linfática distribuídos no Grupo I (com infecção filarial e sem alergia), Grupo II (com alergia e sem infecção filarial) e Grupo III (sem alergia e sem infecção filarial). Recife-PE, 2009-2010.

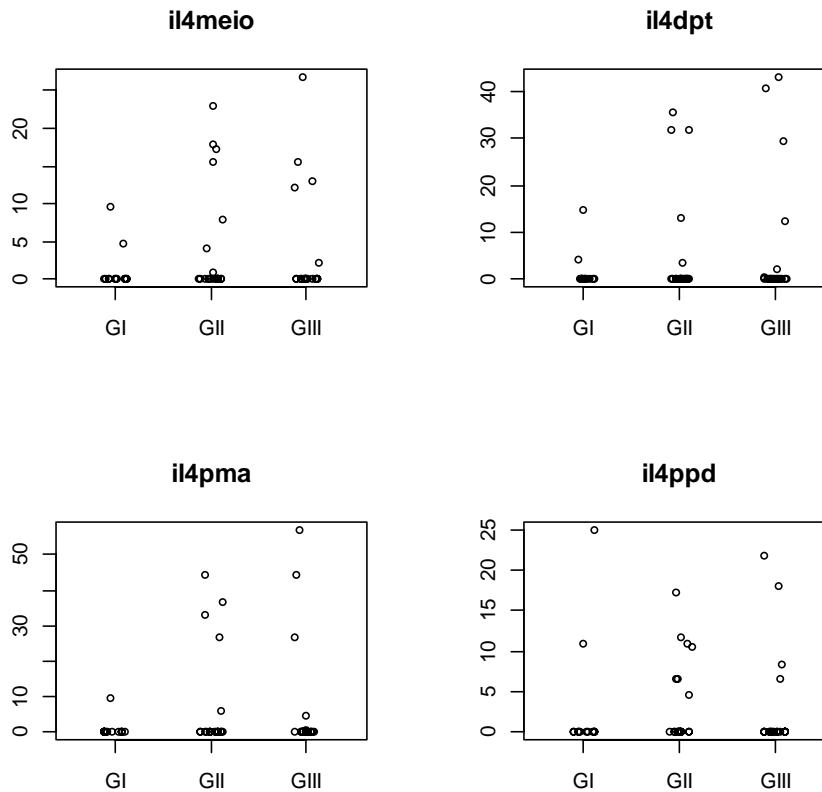
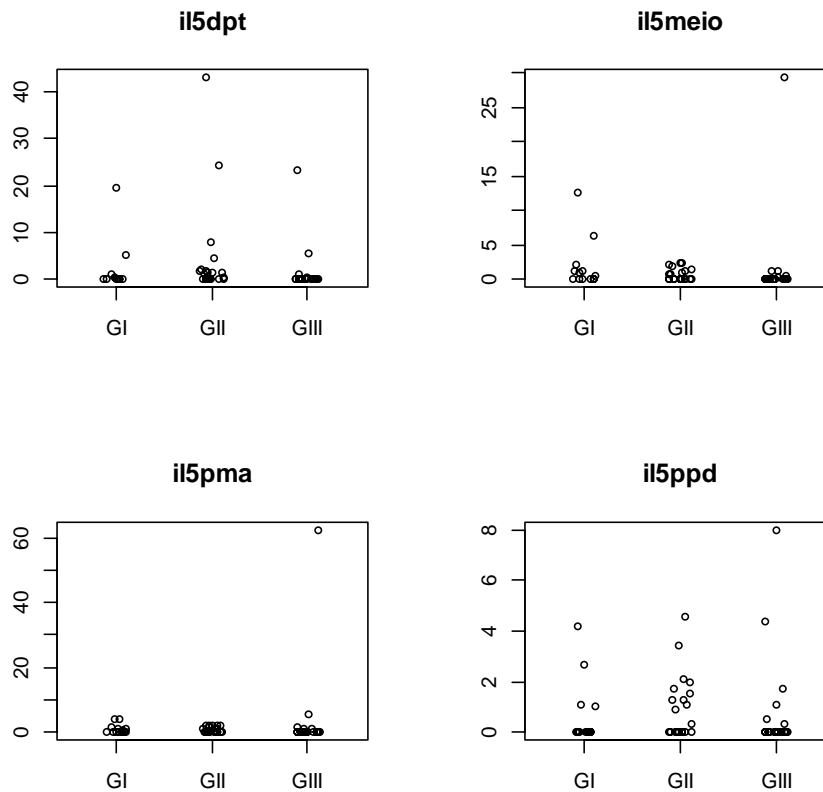


Figura 2 – Valores de produção de IL-5 em cultura de sangue total sem estímulo (meio) e com estímulo de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt), PPD, e mitógenos (PMA) em crianças e adolescentes de área endêmica de filariose linfática distribuídos no Grupo I (com infecção filarial e sem alergia), Grupo II (com alergia e sem infecção filarial) e Grupo III (sem alergia e sem infecção filarial). Recife-PE, 2009-2010.



CAPÍTULO 7



7 Considerações finais

A Filariose linfática e as infecções parasitárias intestinais são importantes problemas de saúde pública em áreas tropicais do mundo. A OMS lançou a proposta para a eliminação global da filariose como problema de saúde pública utilizando como estratégia o tratamento em massa das populações de risco através do uso de terapia combinada com droga antifilarial e antihelmíntica no intuito do combate sinérgico a essas duas endemias. O Brasil aderiu ao plano mundial e a RMR passou também a administrar o tratamento coletivo, optando porém pelo uso isolado da DEC.

Diante do êxito no controle da FL até o ano de 2020 e frente aos conhecimentos científicos de que várias infecções parasitárias intestinais possam proteger contra doença alérgica aumenta a possibilidade que a erradicação possa aumentar a asma e outras manifestações de alergia. Necessita-se assim o entendimento desse comportamento em relação à infecção parasitária filarial para o entendimento de questões subsequentes ao tratamento coletivo. Nesse cenário foi construído o projeto desse trabalho, o qual deixa como observações finais:

1) A revisão bibliográfica sugere que a imunomodulação produzida por nematoides filariais possa ter profunda implicação na reação imune contra outros antígenos, sejam eles vacinas, alérgenos ambientais ou outras infecções.

2) A área endêmica de FL da RMR (bairro de Sapucaia) apresenta uma ocorrência elevada de parasitoses intestinais em escolares.

3) O bairro de Sapucaia também apresenta uma importante concomitância de infecção filarial e parasitoses intestinais em escolares.

4) Justifica-se uma reavaliação do Ministério da Saúde do Brasil para a adição do albendazol no tratamento coletivo de filariose linfática na RMR como benefício na saúde pública.

5) Em crianças e adolescentes microfilarêmicos, com baixa carga parasitária, não se observou diferença na resposta de hipersensibilidade quando comparada com não-infectados.

6) O perfil da produção de citocinas IL-4 em cultura de sangue sem estímulo e com estímulo de *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt), PPD, e mitógenos (PMA) foi semelhante entre os grupos com e sem infecção filarial.

7) O perfil da produção de citocinas IL-5 em culturas de sangue, quando estimulada por *Dermatophagoides pteronyssinus* (Dpt) foi superior no grupo de indivíduos alérgicos, sem infecção filarial, quando comparados com o grupo controle.

8) Estudos futuros da produção de outras citocinas Th2 e Th1 em grupos de estudo semelhantes seriam importantes no entendimento da resposta imune filarial.

CAPÍTULO 8





Departamento de Parasitologia
Laboratório do Serviço de Referência Nacional em
Filariose

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Eu, _____,
responsável pelo menor _____,
concordo com sua participação no projeto* intitulado “*Avaliação da produção de citocinas e resposta cutânea a aeroalérgenos na infecção filarial pela Wuchereria bancrofti*”, desenvolvido no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CPqAM/FIOCRUZ em parceria com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e a Secretaria de Saúde de Jaboatão dos Guararapes e coordenado pelo pesquisador Abraham Rocha.

Recebi a informação de que o propósito principal do referido projeto é a investigação da associação entre filariose e doença alérgica, uma vez que ainda não se tem conhecimento se a filariose pode ou não “proteger” as pessoas infectadas de manifestações alérgicas.

Assim, permito que o meu filho(a) seja submetido aos exames necessários para a realização da pesquisa. Foi-me esclarecido que para esse estudo tanto indivíduos com filariose como sem filariose poderão participar para que os resultados sejam comparados entre os dois grupos.

Foi-me informado que OS EXAMES DE INVESTIGAÇÃO a que os participantes serão submetidos serão:

Para investigação inicial: Os exames abaixo serão realizados para definir qual grupo de estudo meu filho(a) irá participar: grupo com ou sem filariose e grupo com ou sem sintomas de alergia. Esses exames são:

- 1- Exames de fezes – todos os participantes realizarão a coleta de 3 (três) a mostras de fezes para que seja investigada a presença de parasitos intestinais (vermes). Os participantes que apresentam algum desses exames positivos não continuarão a participar do estudo porque os resultados dos outros exames a serem realizados podem ficar alterados em pacientes com “vermes” e podem confundir a sua interpretação no estudo;
- 2- Aplicação de questionários contendo perguntas relativas a sintomas respiratórios e cutâneos (tosse, cansaço, falta de ar, espirros frequentes, coceira no corpo, manchas e placas no corpo, etc) que possam estar presentes em pessoas com as doenças alérgicas como asma, rinite alérgica (“alergia com sintomas nasais) e eczema alérgico (manifestações alérgicas na pele);
- 3- Exames para investigação de filariose: mesmo meu filho(a) já tendo realizado o exame de gota-espessa (“fura-dedo”) para investigar filariose outros exames serão realizados para confirmar ou afastar se ele(ela) tem a infecção filarial. Esses exames são:
 - a) “exames de sangue” – serão coletados 15 ml de sangue para a realização de exames para pesquisa de microfilárias (“verme da filariose”) e de substâncias que o “verme da filariose” elimina no sangue (pesquisa antigênica). Esse exame será colhido com material estéril (“sem infecção”) e por profissional com experiência. O exame não causa qualquer outro desconforto além da “picada” de uma agulha que ocorre em qualquer coleta de sangue e pode, algumas vezes, causar um pequeno hematoma (“arroxado”) no local da picada que desaparece em alguns dias sem qualquer tratamento.

b) ultrassonografia – esse exame será feito para se tentar localizar a presença do “verme adulto da filariose”. É um exame não invasivo (não penetra e não perfura qualquer parte do corpo) e não causa qualquer desconforto ou dor. É realizado com um aparelho que desliza sobre a superfície da pele.

2ª. Etapa da investigação: Em um outro momento serão realizados exames para investigar se há indícios de que meu

meu filho(a) tenha *predisposição (tendência)* para doença alérgica. Esses exames são:

1- Teste cutâneos de alergia (teste de pele de alergia) – esse teste será realizado na pele da face interna do braço. Através de uma pequena “picada” com uma lanceta (semelhante a uma agulha) é introduzida uma pequena quantidade de algumas substâncias que podem causar reações na pele em pessoas alérgicas. Após 15 minutos se observa se houve a formação de uma pápula (“pequeno calombo”) na pele. Esse teste não causa nenhuma complicação além do pequeno desconforto no momento da aplicação e é um exame de rotina para avaliação de pessoas alérgicas.

2- “Exames de sangue”- serão coletados 10 ml de sangue para a pesquisa de células que são produzidas em quantidades que podem estar alteradas em pacientes com manifestações alérgicas.

Quanto aos RISCOS E BENEFÍCIOS da participação de meu filho(a) na pesquisa fui esclarecida que:

Riscos – São os já explicados em cada exame acima.

Benefícios- Na dependência dos resultados dos exames realizados será diagnosticado e tratado adequadamente quanto aos parasitos intestinais (“vermes”). Caso seja confirmado a infecção por filariose será tratado e acompanhado no Serviço de Filariose do CPqAM. Caso se confirme algumas das doenças alérgicas (asma, rinite ou eczema) será acompanhado e tratado no Ambulatório de Alergia da Universidade Federal de Pernambuco. Além desses benefícios individuais estarei colaborando com o conhecimento da filariose em relação à alergia o que será útil para a comunidade onde moro onde há uma grande quantidade de pessoas com essa infecção.

Ficou esclarecido que recebi todos os resultados por escrito dos exames laboratoriais realizados.

Antes da assinatura desse termo e da participação de meu filho(a) no referido projeto o seu responsável ou outro profissional envolvido na pesquisa, dará as informações adicionais que eu julgar necessárias para meu melhor entendimento. Esse documento foi feito em 2 (duas) vias ficando uma em minha posse e outra com o pesquisador.

Autorizo o CPqAM/FIOCRUZ) a conservar, sob sua guarda, qualquer amostra de sangue coletada para exame de laboratório e, caso esse material seja utilizado em futuras pesquisas serei contatada para autorizar o seu uso. Autorizo ainda a utilização das informações obtidas de meu filho(a), em reuniões, congressos e publicações científicas preservando neste caso a sua identidade.

Este “Termo de Consentimento” me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo.

Finalmente, estou ciente que poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer penalização e manutenção do atendimento clínico.

Assinatura do menor

Data

Assinatura do responsável

Data

Assinatura do pesquisador

Data

Endereço para contato do participante da pesquisa

Telefone: _____

Dúvidas ou outras informações posteriores poderão ser obtidas com:

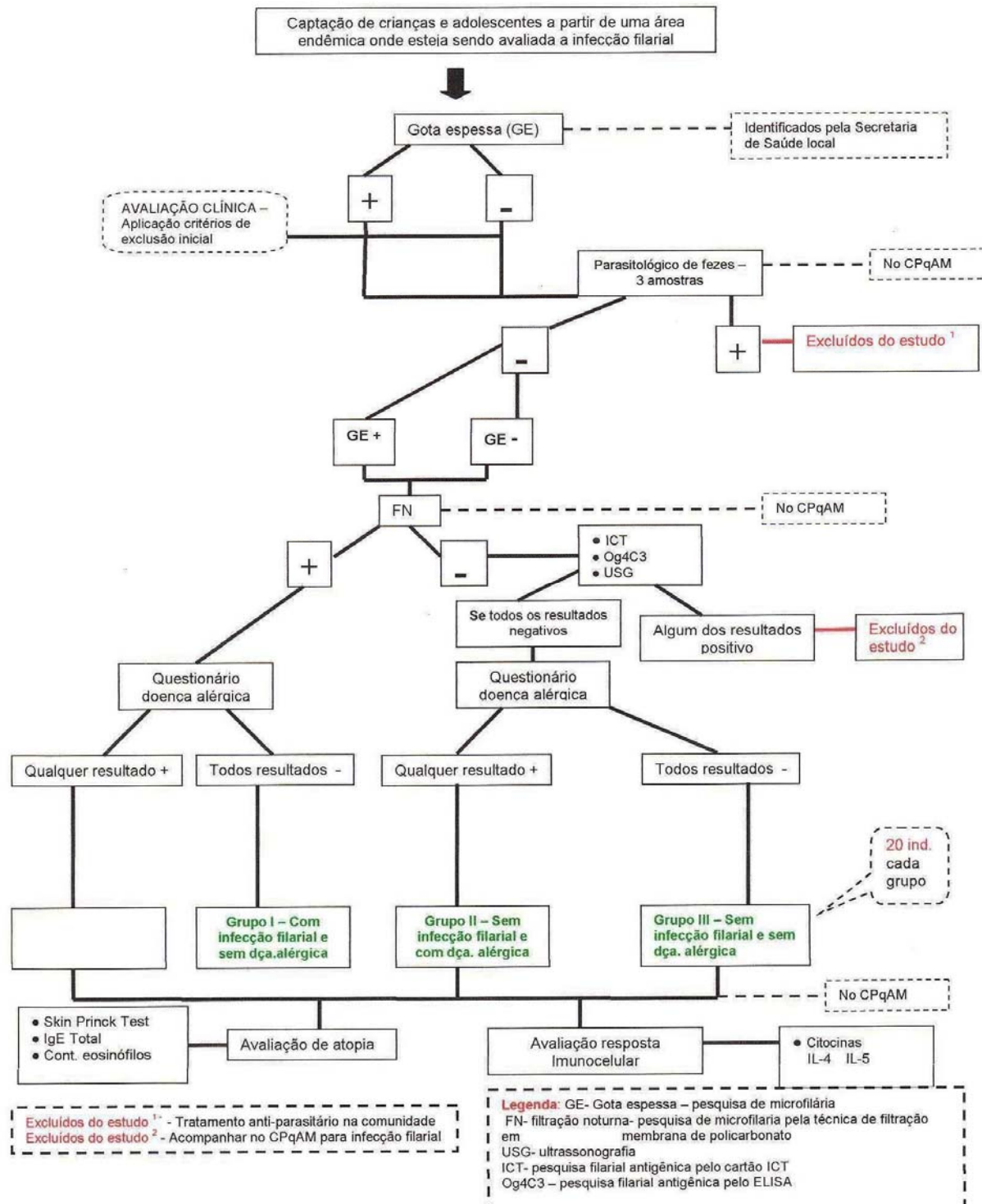
Dra. Ana Maria Aguiar

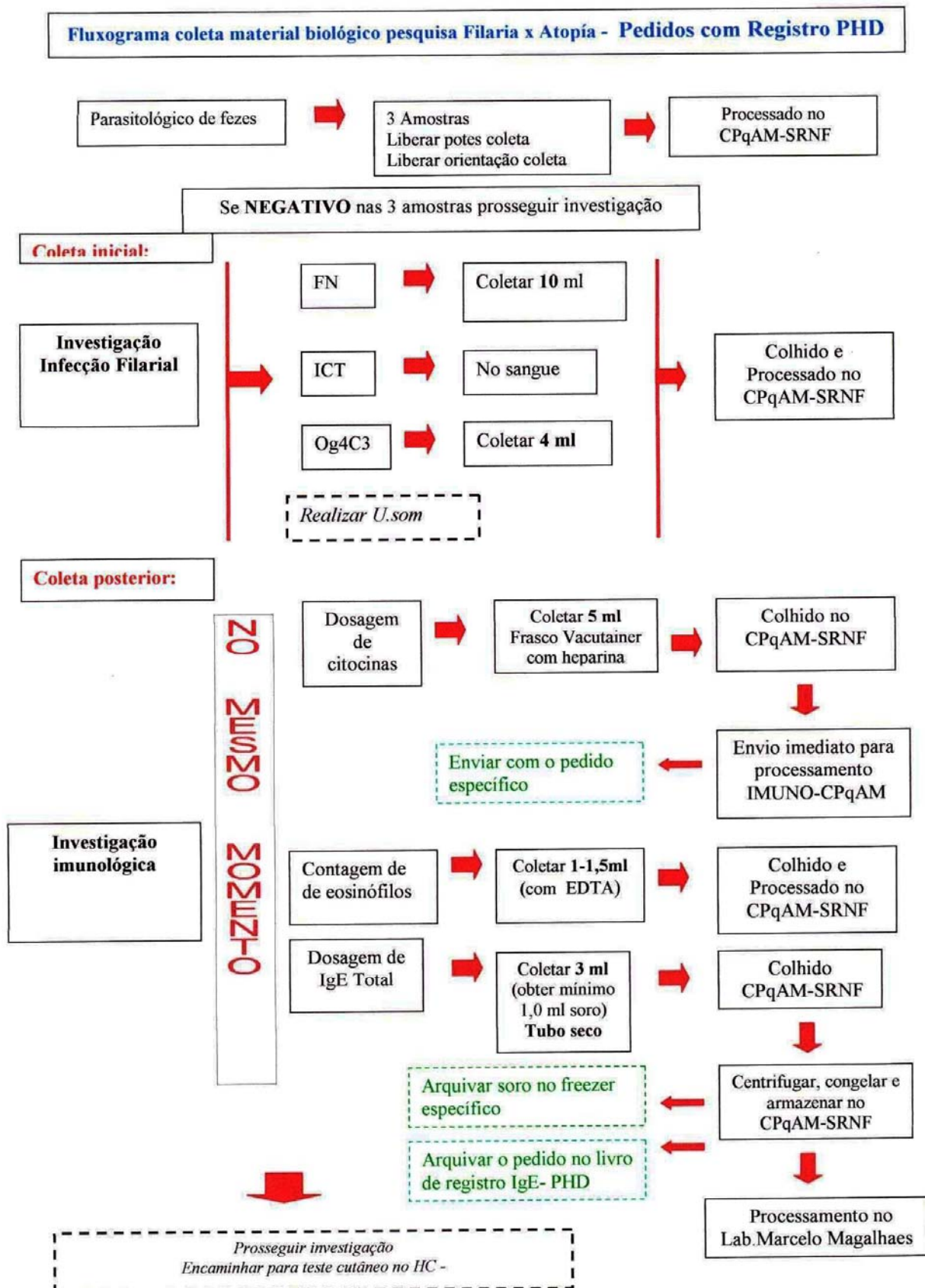
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM)- Av. Moraes Rego s/n – Cidade Universitária

Telefones: 21012573 - 21012500 – 21012546

* Esse projeto antes de ser iniciado foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-CEP/CPqAM/Fiocruz e sua aprovação poderá ser confirmada no site:
www.saude.gov.br/sisnep

FLUXOGRAMA DE SELEÇÃO DOS PACIENTES





QUESTIONÁRIO DE ALERGIA

Projeto: “Avaliação da produção de citocinas e resposta cutânea a aeroalérgenos na infecção pela *Wuchereria bancrofti*”

Nome paciente: _____

Prontuário: PHD _____ **Data atendimento:** _____

I- RINITE:

1- Você apresentou nos últimos **12 meses** algum dos sinais / sintomas abaixo?

	SIM	NÃO	NÃO SABE	
Espirros em salva				
Coriza clara abundante				
Obstrução nasal				
Intenso prurido nasal				
Intenso prurido no palato				
Intenso prurido ocular				
Fricção freqüente no nariz (“saudação alérgica”)				
Lacrimejamento ocular				
Prurido no conduto auditivo externo, palato e/ou faringe				
Respiração oral, roncos, voz anasalada e/ou alterações no olfato				
Irritação e/ou secura na garganta				
Sintomas são recorrentes				
Frequência sintomas >6 crises últimos 12 meses				

2- Você alguma vez teve o diagnóstico de rinite alérgica?

- () SIM
 () NÃO
 () Não sabe

3- Você faz tratamento regular para rinite alérgica?

- () SIM Local: _____
 () NÃO
 ()

- 4) Fechamento do caso:
- () Excluído Rinite
- () Confirmado Rinite

II- ASMA

- 1) Você apresentou nos últimos **12 meses** algum dos sinais / sintomas abaixo?

	SIM	NÃO	NÃO SABE	
Dispneia (“Falta de ar”)				
Tosse crônica				
Sibilância “chiado no peito” “impado”				
Aperto no peito				
Desconforto torácico				
Sintomas são recorrentes/episódicos				
Frequência sintomas >6 crises últimos 12 meses				

- 2) Melhora espontaneamente ou com uso de medicações específicas para asma?
(broncodilatador, corticoides)
Espontânea ()
Broncodilatador () Corticoide ()

- 3) Ocorre variação sazonal (de acordo com clima/ época do ano) dos sintomas ?
 () Sim () Não () Não sabe

- 4) Você alguma vez teve o diagnóstico de asma?
- () SIM
- () NÃO
- () Não sabe

- 7) Você faz tratamento regular para asma?
() SIM
Local:

() NÃO

$$\left(\begin{array}{c} \text{ } \end{array} \right)$$

- 6) Fechamento do caso:
- () Excluído Asma
- () Confirmado Asma

III) DERMATITE ATÓPICA

1) Você apresentou nos últimos **12 meses** algum dos sinais / sintomas abaixo?

	SIM	NÃO	NÃO SABE	
Lesões eczematosas antes 2 anos				
Lesões eczematosas atuais (face, membros e tronco)				
Prurido intenso				
Dermatite crônica e recidivante				

2) Você alguma vez teve o diagnóstico de dermatite atópica?

- () SIM
 () NÃO
 () Não sabe

4) Você faz tratamento regular para dermatite atópica?

- () SIM

Local: _____

- () NÃO

() _____

6) Fechamento do caso: () Excluído Dermatite Atópica
 () Confirmado Dermatite Atópica

IV) EPIDEMIOLOGIA E TRATAMENTO EM USO

1) Você tem história familiar de doenças alérgica?

Rinite () Sim Quem? () Pai () Mãe () Irmão () Não () Não sabe

Asma () Sim Quem? () Pai () Mãe () Irmão () Não () Não sabe

Dermatite Alérgica () Sim Quem? () Pai () Mãe () Irmão () Não ()

Não sabe

2) Você está usando ou usou nos últimos 30 dias alguma medicação?

() NÃO

() SIM

Anti-histamínico: () Cetotifeno (Asmax ®, Asmen®, Zaditen®)
() Clemastina (Agasten®, Clemanil®)
() Dexclofeniramina (Polaramine®, Aleramine®, Desclor®)
() Hidroxizine (Hixizine®, Marax®)
() Prometazina (Fenergan®, Proazamina®)
() Cetirizina (Zyrtec®)
() Desloratadina (Desalex®)
() Ebastina (Ebastel®)
() Epinastina (Talerc®)
() Fexofenadina (Allegra ®)
() Levocetirizina (Zyxem®)
() Loratadina (Claritin®, Lergitec®, Atinac®)
() Rupatadina (Rupafin®,)

Descongestionantes (Associação) () Pseudoefedrina
() Fenilefrina

Corticóides tópicos () Beclometasona (Clenil®, Beclosol®)
() Budesonida (Budecort®, Pulmicort®)
() Fluticasona (Flixonase®, Flixotide®)
() Mometasona (Nasonex®)
() Triancinolona (Nasacort®, Airclin®)

Corticóides orais () Predinisona (Meticorten®, Predcort®, Corticorten®)
() Prednisolona (Prelone, Predsin)

() Cromoglicato dissódico (Intal®, Rilan®, Maxicrom®)
() Brometo de ipatrópio (atrovent®)
() Anti-leucotrienos (Talerc®, Accolate®)
() Imunoterapia (“vacinas”)

CAPÍTULO 9



Anexo A - Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa



Título do Projeto: Avaliação da produção de citocinas e resposta cutânea a aeroalérgenos na infecção pela *Wuchereria bancrofti*.

Pesquisador responsável: Abraham Cezar de Brito Rocha.

Instituição onde será realizado o projeto: CPqAM/Fiocruz

Data de apresentação ao CEP: 16/09/2008

Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 116/08


Registro no CAAE: 0114.0.095.000-08

PARECER Nº 126/2008

O Comitê avaliou as modificações introduzidas e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, Resolução CNS 196/96, e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP e este parecer tem validade até 04 de dezembro de 2011. Em caso de necessidade de renovação do Parecer, encaminhar relatório e atualização do projeto.

Recife, 04 de dezembro de 2008.



Aldemir Fernandes Freyre
Professor
Vice-Coordenador
CEP/CPqAM/FIOCRUZ

Observação:

Anexos:

- Orientações ao pesquisador para projetos aprovados;
- Modelo de relatório anual com 1º prazo de entrega para 04/12/2009.

Anexo B – Comprovante envio Artigo 2 para o “Jornal de Pediatria”

**Jornal de
Pediatria**

Edit Account | Instructions & Forms | Log Out | [Get Help Now](#)

SCHOLARONE™
Manuscripts

ain Menu → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as cristine bonfim

Submission
Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Jornal de Pediatria*.

Manuscript ID: JPED-2012-0327

Title: Avaliação epidemiológica de doenças negligenciadas em crianças e adolescentes no nordeste do Brasil: filariose linfática e parasitoses intestinais

Authors: Aguiar-Santos, Ana Maria
Medeiros, Zulma
bonfim, cristine
Rocha, Abraham
Brandão, Eduardo
Miranda, Tereza
Oliveira, Paula
Sarinho, Emanuel

Date Submitted: 03-Aug-2012

[Print](#) [Return to Dashboard](#)

ScholarOne Manuscripts™ v4.9.0 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2012. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

[Follow ScholarOne on Twitter](#)

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

JORNAL DE PEDIATRIA

Artigos originais incluem estudos controlados e randomizados, estudos de testes diagnósticos e de triagem e outros estudos descritivos e de intervenção, bem como pesquisa básica com animais de laboratório. O texto deve ter no máximo 3.000 palavras, excluindo tabelas e referências; o número de referências não deve exceder 30. O número total de tabelas e figuras não pode ser maior do que quatro.

Instruções para envio de material para publicação

Os manuscritos devem ser enviados por correio eletrônico (e-mail). Caso sejam submetidas figuras ou fotografias cuja resolução não permita uma impressão adequada, a secretaria editorial poderá solicitar o envio dos originais ou cópias com alta qualidade de impressão.

Recomenda-se que os autores guardem uma versão do material enviado, que não será devolvido.

Instruções para envio de material por e-mail

1. Enviar para: jped@jped.com.br

2. Assunto: escrever o título abreviado do artigo

3. Corpo da mensagem: deve conter o título do artigo e o nome do autor responsável pelos contatos pré-publicação, seguidos de uma declaração em que os autores asseguram que:

- a) o artigo é original;
- b) nunca foi publicado e, caso venha a ser aceito pelo Jornal de Pediatria, não será publicado em outra revista;
- c) não foi enviado a outra revista e não o será enquanto sua publicação estiver sendo considerada pelo Jornal de Pediatria;
- d) todos os autores participaram da concepção do trabalho, da análise e interpretação dos dados e de sua redação ou revisão crítica;
- e) todos os autores leram e aprovaram a versão final;
- f) não foram omitidas informações sobre quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores e companhias ou pessoas que possam ter interesse no material abordado no artigo;
- g) todas as pessoas que fizeram contribuições substanciais para o artigo, mas não preencheram os critérios de autoria, são citados nos agradecimentos, para o que forneceram autorização por escrito;
- h) reconhecem que a Sociedade Brasileira de Pediatria passa a ter os direitos autorais, caso o artigo venha a ser publicado. (Obs.: caso o artigo seja aceito para publicação, será solicitado o envio desta declaração com a assinatura de todos os autores.)

4. Arquivos anexados: anexar dois arquivos separados, contendo respectivamente: (a) página de rosto, resumo em

português (ou inglês, se o artigo for submetido em inglês), palavras-chave, texto e referências bibliográficas, (b) tabelas e figuras. Esses arquivos devem permitir a leitura pelos programas do Microsoft Office® (Word, Excel e Access).

Diretrizes para a preparação do original

Orientações Gerais

O original – incluindo tabelas, ilustrações e referências bibliográficas – deve estar em conformidade com os "Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas", publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>).

Cada seção deve ser iniciada em nova página, na seguinte ordem: página de rosto, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e notas de rodapé, em página separada), figuras (cada figura completa, com título e notas de rodapé, em página separada) e legendas das figuras.

A seguir, as principais orientações sobre cada seção: Página de Rosto

A página de rosto deve conter todas as seguintes informações:

- a) título do artigo, conciso e informativo, evitando termos supérfluos e abreviaturas; evitar também a indicação do local e da cidade onde o estudo foi realizado, exceto quando isso for essencial para a compreensão das conclusões; (retirar)
- b) título abreviado (para constar na capa e topo das páginas), com máximo de 50 caracteres, contando os espaços;
- c) nome de cada um dos autores (o primeiro nome e o último sobrenome devem obrigatoriamente ser informados por extenso; todos os demais nomes aparecem como iniciais);
- d) titulação mais importante de cada autor;
- e) endereço eletrônico de cada autor;
- f) informar se cada um dos autores possui currículo cadastrado na plataforma Lattes do CNPq;
- g) a contribuição específica de cada autor para o estudo;
- h) declaração de conflito de interesse (escrever "nada a declarar" ou a revelação clara de quaisquer interesses econômicos ou de outra natureza que poderiam causar constrangimento se conhecidos depois da publicação do artigo);
- i) definição de instituição ou serviço oficial ao qual o trabalho está vinculado para fins de registro no banco de dados do Index Medicus/MEDLINE;
- j) nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pela correspondência;
- k) nome, endereço, telefone, fax e endereço eletrônico do autor responsável pelos contatos pré-publicação;
- l) fonte financiadora ou fornecedora de equipamento e materiais, quando for o caso;
- m) contagem total das palavras do texto, excluindo o resumo, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas e legendas das figuras;

- n) contagem total das palavras do resumo;
- o) número de tabelas e figuras.

Resumo

O resumo deve ter no máximo 250 palavras ou 1.400 caracteres, evitando o uso de abreviaturas. O resumo das comunicações breves deve ter no máximo 150 palavras. Não colocar no resumo palavras que identifiquem a instituição ou cidade onde foi feito o artigo, para facilitar a revisão cega. Todas as informações que aparecem no resumo devem aparecer também no artigo. O resumo deve ser estruturado, conforme descrito a seguir:

Resumo de Artigo Original

Objetivo: informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes.

Objetivo: informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objetivo principal e informar somente os objetivos secundários mais relevantes.

Métodos: informar sobre o delineamento do estudo (definir, se pertinente, se o estudo é randomizado, cego, prospectivo, etc.), o contexto ou local (definir, se pertinente, o nível de atendimento, se primário, secundário ou terciário, clínica privada, institucional, etc.), os pacientes ou participantes (definir critérios de seleção, número de casos no início e fim do estudo, etc.), as intervenções (descrever as características essenciais, incluindo métodos e duração) e os critérios de mensuração do desfecho.

Resultados: informar os principais dados, intervalos de confiança e significância estatística.

Conclusões: apresentar apenas aquelas apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objetivos, bem como sua aplicação prática, dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares.

Texto

O texto dos artigos originais deve conter as seguintes seções, cada uma com seu respectivo subtítulo:

a) **Introdução:** sucinta, citando apenas referências estritamente pertinentes para mostrar a importância do tema e justificar o trabalho. Ao final da introdução, os objetivos do estudo devem ser claramente descritos.

b) **Métodos:** descrever a população estudada, a amostra e os critérios de seleção; definir claramente as variáveis e detalhar a análise estatística; incluir referências padronizadas sobre os métodos estatísticos e informação de eventuais programas de computação. Procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. É obrigatória a inclusão de declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da instituição a que se vinculam os autores ou, na falta deste, por um outro comitê de ética em pesquisa indicado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde .

c) Resultados: devem ser apresentados de maneira clara, objetiva e em sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Usar gráficos em vez de tabelas com um número muito grande de dados.

d) Discussão: deve interpretar os resultados e compará-los com os dados já descritos na literatura, enfatizando os aspectos novos e importantes do estudo. Discutir as implicações dos achados e suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão, levando em consideração os objetivos do trabalho. Relacionar as conclusões aos objetivos iniciais do estudo, evitando assertivas não apoiadas pelos achados e dando ênfase igual a achados positivos e negativos que tenham méritos científicos similares. Incluir recomendações, quando pertinentes.

O texto de artigos de revisão não obedece a um esquema rígido de seções. Sugere-se uma introdução breve, em que os autores explicam qual a importância da revisão para a prática pediátrica, à luz da literatura médica. Não é necessário descrever os métodos de seleção e extração dos dados, passando logo para a sua síntese, que, entretanto, deve apresentar todas as informações pertinentes em detalhe. A seção de conclusões deve correlacionar as ideias principais da revisão com as possíveis aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

Agradecimentos

Devem ser breves e objetivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Integrantes da lista de agradecimento devem dar sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

Referencias Bibliográficas

As referências bibliográficas devem ser numeradas e ordenadas segundo a ordem de aparecimento no texto, no qual devem ser identificadas pelos algarismos arábicos respectivos sobrescritos. Para listar as referências, não utilize o recurso de notas de fim ou notas de rodapé do Word.

As referências devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo Uniform Requirements, que é baseado em um dos estilos do American National Standards Institute, adaptado pela U.S. National Library of Medicine (NLM) para suas bases de dados. Os autores devem consultar *Citing Medicine, The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>) para informações sobre os formatos recomendados para uma variedade de tipos de referências. Podem também consultar o site "sample references" (http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html), que contém uma lista de exemplos extraídos ou baseados em *Citing Medicine*, para uso geral facilitado; essas amostras de referências são mantidas pela NLM.

Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados, podem ser citados desde que indicando a revista e que estão "no prelo".

Observações não publicadas e comunicações pessoais não podem ser citadas como referências; se for imprescindível a inclusão de informações dessa natureza no artigo, elas devem ser seguidas pela observação "observação não publicada" ou "comunicação pessoal" entre parênteses no corpo do artigo.

Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtida através da publicação da NLM "List of Serials Indexed for Online Users", disponível no endereço <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lisou.html>. Para informações mais detalhadas,

consulte os "Requisitos Uniformes para Originais Submetidos a Revistas Biomédicas". Este documento está disponível em <http://www.icmje.org/>.

Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, numerada na ordem de aparecimento no texto, e conter um título sucinto, porém explicativo. Todas as explicações devem ser apresentadas em notas de rodapé e não no título, identificadas pelos seguintes símbolos, nesta sequência: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Não sublinhar ou desenhar linhas dentro das tabelas, não usar espaços para separar colunas. Não usar espaço em qualquer lado do símbolo ±.

Figuras (fotografias, desenhos, gráficos)

Todas as figuras devem ser numeradas na ordem de aparecimento no texto. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas, inclusive acerca das abreviaturas utilizadas na tabela. Figuras reproduzidas de outras fontes já publicadas devem indicar esta condição na legenda, assim como devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos. Fotos não devem permitir a identificação do paciente; tarjas cobrindo os olhos podem não constituir proteção adequada. Caso exista a possibilidade de identificação, é obrigatória a inclusão de documento escrito fornecendo consentimento livre e esclarecido para a publicação. Microfotografias devem apresentar escalas internas e setas que contrastem com o fundo.

As ilustrações são aceitas em cores para publicação no site. Contudo, todas as figuras serão vertidas para o preto-e-branco na versão impressa. Caso os autores julguem essencial que uma determinada imagem seja colorida mesmo na versão impressa, solicita-se um contato especial com os editores. Imagens geradas em computador, como gráficos, devem ser anexadas sob a forma de arquivos nos formatos .jpg, .gif ou .tif, com resolução mínima de 300 dpi, para possibilitar uma impressão nítida; na versão eletrônica, a resolução será ajustada para 72 dpi. Gráficos devem ser apresentados somente em duas dimensões, em qualquer circunstância. Desenhos, fotografias ou quaisquer ilustrações que tenham sido digitalizadas por escaneamento podem não apresentar grau de resolução adequado para a versão impressa da revista; assim, é preferível que sejam enviadas em versão impressa original (qualidade profissional, a nanquim ou impressora com resolução gráfica superior a 300 dpi). Nesses casos, no verso de cada figura deve ser colada uma etiqueta com o seu número, o nome do primeiro autor e uma seta indicando o lado para cima.

Legendas das Figuras

Devem ser apresentadas em página própria, devidamente identificadas com os respectivos números.

Lista de Verificação

Como parte do processo de submissão, os autores são solicitados a indicar sua concordância com todos os itens abaixo; a submissão pode ser devolvida aos autores que não aderirem a estas diretrizes.

1. Todos os autores concordam plenamente com a Nota de Copyright.
2. O arquivo de submissão foi salvo como um documento do Microsoft Word.
3. A página de rosto contém todas as informações requeridas, conforme especificado nas diretrizes aos autores.
4. O resumo e as palavras-chave estão na língua de submissão (inglês ou português), seguindo a página de rosto.
5. O texto é todo apresentado em espaço duplo, utiliza fonte tamanho 12 e itálico em vez de sublinhado para indicar ênfase (exceto em endereços da internet). Todas as tabelas,

figuras e legendas estão numeradas na ordem em que aparecem no texto e foram colocadas cada uma em página separada, seguindo as referências, no fim do arquivo.

6. O texto segue as exigências de estilo e bibliografia descritas nas normas de publicação.

7. As referências estão apresentadas no chamado estilo de Vancouver e numeradas consecutivamente na ordem em que aparecem no texto.

8. Informações acerca da aprovação do estudo por um conselho de ética em pesquisa são claramente apresentadas no texto, na seção de métodos.

9. Todos os endereços da internet apresentados no texto (p.ex., <http://www.sbp.com.br>) estão ativos e prontos para serem clicados.

10. Na submissão de um original que vá ser submetido a revisão por pares, os nomes e afiliações dos autores devem ser removidos do arquivo principal. Nas referências, os nomes dos autores, títulos de artigos e outras informações devem ser substituídos simplesmente por "Autor," de modo a assegurar um processo de revisão cega.