



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA**



**GABRIELA DE SALES GUERREIRO BRITTO**

**O PAPEL DE COINFECCÕES HELMÍNTICAS SOBRE A  
ATOPIA, ASMA E PERFIL DE CITOCINAS EM CRIANÇAS**

Salvador, Bahia  
2012

**GABRIELA DE SALES GUERREIRO BRITTO**

**O PAPEL DE COINFECÇÕES HELMÍNTICAS SOBRE A  
ATOPIA, ASMA E PERFIL DE CITOCINAS EM CRIANÇAS**

Dissertação de mestrado apresentada ao curso de Pós-graduação em Imunologia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia.

**Orientadora: Profa. Dr.<sup>a</sup> Neuza Maria Alcântara Neves.**

Salvador, Bahia  
Abril, 2012

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA.

B862 Britto, Gabriela de Sales Guerreiro

O papel de coinfeções helmínticas sobre atopia, asma e perfil de citocinas em crianças / Gabriela de Sales Guerreiro Britto. – Salvador, 2013.

182 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Neuza Maria Alcântara Neves

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde, 2013.

1. Asma. 2. Crianças. 3. Helmintos. 4. Saúde. I. Neves, Neuza Maria Alcântara. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 616.248



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA



ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA PARA JULGAMENTO DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA Gabriela de Sales Guerreiro Britto

Aos dois dias do mês de maio do ano de dois mil e doze, às 14 horas no auditório Ophélia Gaudenzi no 3º andar do Instituto de Ciências da Saúde, se reúne a Banca Examinadora composta das Professoras: Dra. Neuza Maria Alcântara Neves orientadora, Dra. Maria Ilma Andrade Santos Araújo, Dra. Márcia Cristina Aquino Teixeira com a finalidade de discutir, avaliar e julgar o trabalho de Dissertação intitulado: "O PAPEL DE COINFEÇÕES HELMÍNTICAS SOBRE ATOPIA, ASMA E PERFIL DE CITOCINAS EM CRIANÇAS" da Mestranda Gabriela de Sales Guerreiro Britto. Após a apresentação, foram feitos os comentários pelos examinadores. Havendo cumprido as exigências para a defesa, a Banca Examinadora conclui que a pós-graduanda teve a sua defesa de Dissertação APROVADA, emitindo pareceres individuais que serão anexados à ata. Nada mais havendo a tratar, é encerrada a sessão, da qual é lavrada a presente ata que após lida e aprovada vai assinada pelas componentes da Banca examinadora, pela Mestranda e pela Coordenadora do Programa de Pós-Graduação. Salvador, dois de maio do ano de dois mil e doze.

Dra. Neuza Maria Alcântara Neves  
Orientadora

Dra. Márcia Cristina Aquino Teixeira  
Banca Examinadora

Dra. Maria Ilma Andrade Santos Araújo  
Banca Examinadora

Gabriela de Sales Guerreiro Britto  
Mestranda

Profa. Dra. Silvia Lima Costa  
Coordenadora do PPGIm  
ICS - UFBA em exercício

*Dedico esse trabalho à família e amigos queridos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sua benevolência plena e pelas oportunidades que me dá de crescimento;

Aos meus pais, Kátia e Paulo, por terem sido instrumentos da minha reencarnação e por todo o amor dedicado a mim;

Às minhas irmãs, Paula e Camila, por fazerem parte da minha vida e do meu crescimento;

Aos primos, tias, avós, e agregados, por manterem o que há de mais bonito na nossa família, o amor;

À professora Neuza pela paciência, ajuda materna e oportunidade de crescimento científico;

À Professora Camila, pelo amparo no amadurecimento do trabalho;

A todos os professores do Cantinho da Cinderela, ISBA, LEMA, Laboratório de Imunofarmacologia, LAA, Laboratório de Virologia e PPGIM, por terem me transmitido conhecimentos que, hoje, me permitem estar aqui;

Ao meu pai de coração, Paulo Tadeu, pela sua existência;

Ao Professor Altanir Marinho, pela incrível oportunidade de experiência em sala de aula e pelo seu exemplo como profissional;

Aos colegas e amigos do LAA, do Laboratório de Imunofarmacologia e dos vários outros laboratórios do ICS e FIOCRUZ que me ajudaram a continuar o trabalho;

Às “Divas” e Bolo, por todas as risadas, pelas compreensões e todos os momentos bons juntos;

À Camila Pimentel, pelo apoio emocional;

A Filipe Borba, por toda a ajuda com o trabalho, apoio emocional, companheirismo;

Ao CEDLV, Estrela de Jacob II e JESUS pelo amparo espiritual;

A Cássio Moura, pela lição de vida;

A Egas Guerreiro, pela sua companhia;

Enfim, a todos que acreditaram em mim, mesmo os não citados...

Muito Obrigada!

“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo  
começo, qualquer um pode começar agora e fazer um  
novo fim.”

Francisco Cândido Xavier

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>18</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>MANUSCRITO.....</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>APOIO FINANCEIRO.....</b>	<b>51</b>



## LISTA DE TABELAS

<b>Table 1</b> - Associations between burden of helminth infections and eosinophilia or total IgE in 1,155 children.....	<b>45</b>
<b>Table 2</b> - Association between burden of helminth infections with specific IgE and SPT positivity for at least one allergen in 1,271 studied children.....	<b>46</b>
<b>Table 3</b> - Associations between burden of helminth infections and asthma or asthma phenotypes in 1,271 children.....	<b>47</b>
<b>Table 4</b> - Associations between burden of helminth infection and cytokine production by peripheral blood leukocytes (PBLs) stimulated with <i>A. lumbricoides</i> antigen.....	<b>48</b>
<b>Table 5</b> - Association between burden of helminth infection with cytokine production by peripheral blood leukocytes cultured in medium alone (i.e. spontaneous cytokine production).....	<b>49</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>A. lumbricoides</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>
<b>CAPES</b>	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
<b>CCL11</b>	Quimiocina 11
<b>CCL17</b>	Quimiocina 17
<b>CCL22</b>	Quimiocina 22
<b>CD40L</b>	CD40 ligand
<b>CD4+</b>	Marcador de superfície celular
<b>CNPq</b>	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<b>CTLA4</b>	Antígeno 4 Associado ao Linfócito T Citotóxico
<b>DATASUS</b>	Banco de Dados do Sistema Único de Saúde (BR)
<b>FAPESB</b>	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia
<b>FcεRI</b>	Receptor de Alta Afinidade para IgE
<b>FEV<sub>1</sub></b>	Volume expiratório forçado em 1 segundo
<b>GINA</b>	Global Initiative for Asthma
<b>HCPC</b>	Health Consequences of Population Change
<b>IFN-γ</b>	Interferon-Gamma
<b>IgE</b>	Imunoglobulina E
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>IgG4</b>	Imunoglobulina G4
<b>IL-4</b>	Interleucina-4
<b>IL-5</b>	Interleucina-5
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>IL-9</b>	Interleucina-9
<b>IL-10</b>	Interleucina-10
<b>IL-13</b>	Interleucina-13
<b>INCT</b>	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia
<b>ISAAC</b>	International Study of Asthma and Allergies in Childhood
<b>MCT</b>	Ministério da Ciência e Tecnologia
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>
<b>PEF</b>	Pico de Fluxo Expiratório

<b>PPGIm</b>	Programa de Pós-graduação em Imunologia
<b>ProAR</b>	Programa de Controle da Asma e da Rinite Alérgica na Bahia
<b>SCAALA</b>	Social Change of Asthma and Allergy in Latin America
<b><i>Schistosoma spp.</i></b>	<i>Schistosoma species</i>
<b>sIgE</b>	Imunoglobulina E específica
<b>SPT</b>	Teste de Puntura Cutâneo
<b>STATA</b>	Data Analysis and Statistical Software
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde (BR)
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Fator de transformação do crescimento beta
<b>Th1</b>	Células T auxiliares 1
<b>Th2</b>	Células T auxiliares 2
<b><i>Toxocara spp.</i></b>	<i>Toxocara species</i>
<b><i>T. canis</i></b>	<i>Toxocara canis</i>
<b><i>T. cati</i></b>	<i>Toxocara cati</i>
<b>TcESLA</b>	Excretory/secretory products of <i>T. canis</i> larvae
<b><i>T. trichiura</i></b>	<i>Trichuris trichiura</i>
<b>UFBA</b>	Universidade Federal da Bahia
<b>WHO</b>	World Health Organization

## RESUMO

A asma é uma enfermidade crônica, que afeta cerca de 235 milhões de pessoas no mundo. Em uma pesquisa realizada através do ISAAC fase I (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*), o Brasil está entre os oito países do mundo que demonstraram prevalência mais alta de asma. Helminhos, principalmente aqueles que habitam a intimidade do corpo do hospedeiro, têm sido relatados como fortes moduladores do sistema imune em humanos e animais experimentais, e associados com a redução de doenças alérgicas e autoimunes. Crianças que vivem em áreas sem "higiene" são mais propensas a ter, não só uma, mas várias infecções por helmintos, ao mesmo tempo, mas a maneira como eles afetam atopia e asma ainda é controversa. O objetivo do presente trabalho foi investigar como coinfeções por parasitos intestinais (*A. lumbricoides* e *T. trichiura*) e *Toxocara* spp. afetam os seguintes desfechos: eosinofilia, IgE total e específica, reatividade cutânea a aeroalérgenos, sibilância atópica e não atópica e produção de citocinas por células sanguíneas das crianças estudadas, estimuladas ou não estimuladas por *A. lumbricoides*. O estudo foi realizado em 1.271 crianças de um grande centro urbano do Nordeste, Brasil. Os dados sobre sintomas de sibilância foram coletados por um questionário adaptado do ISAAC fase II. O sangue foi coletado para detectar IgE total e alérgeno específica, eosinofilia, anticorpos anti-IgG de *Toxocara* e produção de citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-13 e IL-10). Outras avaliações foram realizadas, incluindo testes de puntura cutâneo (SPT) para aeroalérgenos, além disso, as infecções por helmintos intestinais foram diagnosticadas através do exame microscópico das amostras fecais. Considerando a prevalência de infecções helmínticas, 36,4% das crianças tinham apenas uma infecção, 12,7% tinham duas e 5,2% tinham três infecções. Eosinofilia  $>4\%$  e  $>10\%$  foi encontrada em 74,3% e 25,5% das crianças, respectivamente. IgE total  $>0,2$  ug/mL ocorreu em 59,7%. IgE específica (sIgE)  $\geq 0,70$  kU/L e positividade para SPT, para pelo menos um alérgeno, foram encontrados em 37,1% e 30% das crianças, respectivamente. Um total de 22,7% das crianças apresentava sibilo em geral, 12% apresentaram sibilância não atópica, 10,7% tinham sibilo atópico e 26% eram não-sibilantes atópicas. A infecção por uma espécie de helminto foi associada com aumento de eosinofilia e IgE total e menor SPT e coinfeções mostraram uma associação dose-dependente com esses resultados. Helminhos, especialmente em coinfeções, foram associados com uma típica resposta imune Th2 modificada (evidenciada pela produção de IL-5; IL-13 e IL-10), mas não foi encontrada associação com sibilo (atópico e não atópico). Coinfeções por helmintos induziram uma resposta imune Th2 melhorada e dose-dependente, evidenciada pela produção de IL-5, IL-13, o que explica a associação com o aumento de IgE total e de eosinofilia. No entanto, eles também ativaram uma rede regulatória conduzindo a uma resposta Th2-modificada, com a produção de IL-10 que, juntamente com a ativação de IgE policlinal, pode ter suprimido a reatividade na pele. No entanto, eles não foram capazes de afetar nem sibilo atópico, nem não atópico. Estudos adicionais devem ser realizados para elucidar os mecanismos moleculares da presente imunomodulação exercida pelos helmintos sob a atopia.

**Palavras-chave:** Coinfeções por helmintos; eosinofilia; IgE total e IgE específica; reatividade cutânea; sibilo atópico e não atópico; citocinas; rede de regulatória.

## 1 INTRODUÇÃO

A asma é uma enfermidade crônica, que afeta cerca de 235 milhões de pessoas no mundo, sendo a doença crônica mais comum em crianças. A patogênese é caracterizada por recorrentes ataques de falta de ar, sibilos, aperto no peito e tosse, podendo variar sua gravidade de pessoa para pessoa (GINA 2011; WHO 2011).

A doença é considerada a maior causa mundial de morbidade crônica e mortalidade em crianças e a sua prevalência vem aumentando nas duas últimas décadas em todo o mundo, o que permite modificar a ideia de que ela é apenas um problema de saúde pública de países desenvolvidos (GINA 2011; WHO 2011).

Em uma pesquisa realizada através do ISAAC fase I (International Study of Asthma and Allergies in Childhood), em que participaram 156 centros de 56 países diferentes (ISAAC 2011), foi observado que o Brasil está entre os oito países do mundo que demonstraram maior prevalência de asma e Salvador, em especial, apresentou a prevalência de 27,1% de sibilo nos últimos 12 meses em crianças de 13 e 14 anos (Solé et al. 2007). Posteriormente, com o início do ISAAC fase III (ISAAC 2011), Salvador obteve um decréscimo de aproximadamente 7% dessa prevalência na mesma população e, mesmo assim, ficou entre os escores mais altos do mundo (Feitosa et al. 2011; ISAAC 2011).

De acordo com dados do DATASUS, a asma foi responsável por 192 mil casos de internação no SUS (Sistema Único de Saúde, Brasil) no ano de 2010 e em 2008 foi a terceira causa de internação hospitalar pelo sistema, com cerca de 300 mil hospitalizações no ano no país (BRASIL 2010, 2011).

O aumento da prevalência da doença, associado ao número elevado de internações, despesas com tratamento, consultas em emergências, representa um elevado custo econômico para os sistemas de saúde públicos. Ainda há, também, um elevado ônus para o indivíduo e sua família, já que adultos asmáticos geralmente apresentam dificuldades em trabalhar e/ou cuidar da família e crianças apresentam dificuldades em acompanhar o ano letivo escolar, além da ocorrência de mortes prematuras (Bousquet & Kaltaev 2007; Costa et al. 2010; Lee 2010).

A patogênese da asma ainda não está completamente definida, mas há alguns fatores de riscos associados à mesma, como desenvolvimento econômico, exposição a alérgenos, fumo, ar poluído, infecções, dieta, obesidade, uso de antibióticos, processo de urbanização e migração rural-urbana e clima, associados a uma predisposição genética (Cooper et al. 2009; Lee 2010; WHO 2011).

Somente o diagnóstico clínico de asma não é suficiente para determinar a doença, já que seus sintomas podem aparecer em outras enfermidades. Por isso, faz-se necessário a realização de testes laboratoriais como os de aferição do volume expiratório forçado em um minuto (FEV<sub>1</sub>) e pico de fluxo expiratório (PEF), além de teste de puntura cutâneo e IgE específico para aeroalérgenos, unidos a um relato do histórico de asma individual e familiar (Kaplan et al. 2009; Pereira 2007).

A asma pode ser inicialmente definida como de origem atópica ou não-atópica, sendo esses os fenótipos mais estudados, entretanto ainda há discussões a respeito da existência de outros fenótipos ou endofenótipos, como o de asma persistente ou intermitente, asma controlada ou não controlada por medicações, asma associada a exercício, entre outros (Anderson 2008; Wenzel 2006).

A atopia, considerada um fator de risco principal para a persistência e a maior gravidade de sintomas na asma, é definida como uma susceptibilidade em produzir anticorpos da classe IgE como resposta a exposição a antígenos ambientais (alérgenos), normalmente inócuos para indivíduos normais (Pereira 2007; Ponte et al. 2011).

No desenvolvimento da asma atópica ou alérgica, portanto, células apresentadoras de antígenos, tais como células dendríticas ou macrófagos, em um primeiro contato com o antígeno (alérgeno), captura-o, processa-o e o apresenta a células T CD4<sup>+</sup> “naïve”, que se diferenciam em células do tipo Th2. Esse processo é chamado de sensibilização e resulta em proliferação de linfócitos B e sua diferenciação em plasmócitos produtores de IgE, sendo todos esses fatores mediados por citocinas do perfil Th2 (Arima & Fukuda 2011; Bartunkova et al. 2009; Van Cauwenberge 1997).

Os anticorpos IgE produzidos se ligam a receptores de alta afinidade (FcεRI) na superfície de mastócitos e basófilos e, em posterior contato com o alérgeno, pode haver a formação de um complexo composto por dois anticorpos IgE ligados a seus respectivos receptores se ligando ao mesmo antígeno (*cross-linking*), promovendo a imediata liberação de mediadores inflamatórios, inicialmente histamina e, secundariamente, leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos e citocinas (Bartunkova et al. 2009).

Dentre as citocinas e quimiocinas envolvidas no processo, como IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 e IL-13, CCL11, CCL17 e CCL22, algumas possuem papel importante no desenvolvimento da reação de hipersensibilidade imediata e a consequente inflamação ocasionada. A IL-4 promove a diferenciação e proliferação de células Th2 e a IL-13 medeia a hiperresponsividade das vias aéreas, com a produção exacerbada de muco, além disso, as duas são capazes de estimular a troca de isótipo de imunoglobulinas, levando a produção de IgE. A IL-5 tem um papel na ativação e recrutamento de eosinófilos. As quimiocinas CCL11, CCL17 e CCL22 promovem infiltração de células inflamatórias em locais expostos aos alérgenos (Arima & Fukuda 2011). Estes fatores promovem inflamação pulmonar com infiltrado predominantemente eosinofílico, muco, hiper-reatividade e remodelamento brônquico, além de elevados níveis séricos de IgE e de citocinas características do perfil Th2 (Arima & Fukuda 2011; Rizzo & Fomin 2005).

A asma não atópica, em populações latino-americanas, é mais comum na infância, mas também está relacionada a casos graves de asma em adultos, sendo composta por uma sibilância não mediada por IgE (Moncayo et al. 2010; Turato et al. 2008).

Evidências tem demonstrado uma diferença entre fatores de risco associados à asma atópica e não atópica em crianças e adolescentes (Barreto *et al.* 2010a). O sibilo atópico em crianças tem sido associado principalmente a infecções virais (Turato et al. 2008). Entretanto, um estudo feito em uma comunidade pobre de Uruguaiana, cidade do extremo no Sul do Brasil, em 2007, demonstrou que a infecção por *Ascaris lumbricoides* é um fator de risco para asma não atópica em crianças com história de bronquiolite antes dos dois anos de idade (Pereira et al. 2007).

Embora a presença de eosinófilos no infiltrado pulmonar proveniente de indivíduos com asma não atópica ser possível e sintomas respiratórios e hiperresponsividade brônquica serem de

gravidade semelhante nos dois principais fenótipos de asma, os asmáticos não atópicos, exibem um perfil de infiltrado pulmonar tipicamente neutrofílico e com alto número de mastócitos (Kraneveld et al. 2002; Stoten et al. 2005).

A asma, na América Latina, é considerada uma doença de ambiente urbano, podendo-se observar, através dos poucos estudos desenvolvidos em zonas rurais, uma proteção da população rural à asma e outras doenças alérgicas (Cooper et al. 2009).

Estudos epidemiológicos tem demonstrado um significativo aumento das enfermidades alérgicas em paralelo a um decréscimo na incidência e prevalência de doenças infecciosas em um mesmo período de tempo. Esses fatores estão aparecendo concomitantemente com melhores condições de vida, representadas pela melhoria do saneamento básico e condições econômicas, mudanças nos hábitos de higiene e do estilo de vida, aumento do uso de vacinas, antibióticos e de alimentos industrializados (Pereira 2007).

Os mecanismos pelos quais microrganismos e helmintos regulam as doenças alérgicas têm sido estudados na hipótese da higiene. Inicialmente a hipótese descrevia apenas o papel regulador de respostas de tipo Th1 sobre respostas de tipo Th2. No entanto, a observação de que infecções de tipo Th2, induzidas por helmintos, também possuíam um papel protetor, reduzindo o risco de alergia, levou a uma reformulação da hipótese, e ressaltou o papel de células T regulatórias modulando as respostas inflamatórias tanto no perfil Th1, como no Th2 (Alcantara-Neves et al. 2012; Rodrigues et al. 2008).

Helmintos, principalmente aqueles que parasitam intimamente o corpo humano, como *Schistosoma* spp. e filarídeos linfáticos, têm sido reportados como fortes moduladores do sistema imune de humanos e animais experimentais (Smits & Yazdanbakhsh 2007). Em humanos, eles estão envolvidos na redução da resposta imune em crianças que fazem parte de programas de vacinação (Cooper et al. 2011; Elias et al. 2008), na diminuição da hipersensibilidade cutânea a aeroalérgenos (Araujo et al. 2000; van den Biggelaar et al. 2000), asma (Medeiros et al. 2003) e na resposta imune inflamatória de doenças autoimunes (Bodammer et al. 2011).

Moléculas de helmintos têm sido isoladas e demonstram uma interatividade com o sistema imune natural e adquirido, resultando em uma resposta imune Th2 modificada, com diminui-



ção de CTLA4 e de CD40L e produção de IL-10 E TGF- $\beta$ , que são citocinas regulatórias (Cardoso et al. 2010; Goodridge et al. 2005; Harnett & Harnett 2009; Oliveira et al. 2009).

Embora alguns trabalhos tenham demonstrado que a infecção por helmintos intestinais como *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* esteja associada com imunossupressão (Figueiredo et al. 2010; Wammes et al. 2010) e atua diminuindo a atopia (Endara et al. 2010; Rodrigues et al. 2008) e asma (Dagoye et al. 2003), outros trabalhos tem mostrado ausência (Cooper et al. 2003) ou exacerbação de tal associação (Alcantara-Neves et al. 2010; Feary et al. 2011).

Essas diferenças têm sido atribuídas ao tempo da infecção parasitária no indivíduo, carga parasitária e cronicidade dessas infecções (Smits & Yazdanbakhsh 2007). Em uma mesma população, por exemplo, Rodrigues e colaboradores (2008) encontraram que crianças na infância tardia que foram infectadas com *T. trichiura* no passado apresentaram menor hipersensibilidade cutânea a aeroalérgenos, enquanto Alcântara-Neves e colaboradores (2010) reportaram que, quando essas crianças se encontravam em uma faixa etária menor que cinco anos, elas apresentavam baixa a moderada carga parasitária e infecções por *T. trichiura* estavam associadas com aumento de atopia e sibilo atópico.

A prevalência de infecções por helmintos intestinais está diminuindo em grandes cidades de países em desenvolvimento, onde medidas de saneamento têm sido implantadas (Barreto et al. 2010b). Entretanto, infecções por *Toxocara* spp. (*T. canis* e *T. cati*) são altamente prevalentes nesses ambientes, pois não são afetadas por medidas de saneamento. O controle destes parasitos depende do desenvolvimento socioeconômico das populações afetadas e consequente controle de cães e gatos errantes e conscientização quanto à vermifugação de animais de estimação, que são metas difíceis de serem alcançadas (Regis et al. 2011). Em Salvador, a cidade onde foi realizado o presente trabalho, Datolli e colaboradores (2011) encontraram 46% de soropositividade para *Toxocara* spp. em doadores de sangue livres de infecções por helmintos intestinais e esses indivíduos possuíam altos níveis de eosinofilia e IgE total no sangue. A infecção por *Toxocara* tem sido associada positivamente com atopia e asma em diversos estudos (Cooper 2008), mas na população de Salvador, embora seja associada positivamente com IgE específica, está associada negativamente com teste de puntura cutâneo e não associado com sibilância nessas crianças (dados em submissão). O efeito de infecções por helmintos intestinais isolados e associados a outros patógenos sobre a atopia e sibilo na população do

presente estudo já foi demonstrado (Alcantara-Neves et al. 2012). Também há relato, nessa população, sobre como infecções por *A. lumbricoides* e *T. trichiura* estão associadas com citocinas produzidas por células de sangue total não estimuladas (Figueiredo et al. 2010).

A imunomodulação de inflamações alérgicas por antígenos parasitários tem sido estudada por diversos grupos de pesquisa e representa novas perspectivas para o tratamento dessas doenças (Araujo et al. 2010; Cardoso et al. 2010). Entretanto, os processos envolvidos na associação de parasitoses e doenças alérgicas e asma ainda são controversos, mostrando a necessidade de novos estudos e da avaliação de múltiplas infecções como um fator importante da imunomodulação por essas infecções.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar como coinfeções por parasitos intestinais (*A. lumbricoides* e *T. trichiura*) e *Toxocara* spp., em conjunto, podem interagir com o sistema imune e como se associam com atopia e asma em um grupo de crianças de 4 a 11 anos de idade, oriundas de populações carentes de Salvador, Bahia.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a associação das infecções estudadas (*A. lumbricoides*, *T. trichiura* e *Toxocara* spp.) com eosinofilia, reatividade cutânea, presença de IgE específica para aeroalérgenos e IgE total;
- Investigar a associação das infecções estudadas com asma atópica e não atópica;
- Investigar a associação das infecções estudadas com citocinas (IL-10, IL-13, IL-5 e IFN- $\gamma$ ) produzidas por células sanguíneas não estimuladas e estimuladas com antígenos de *A. lumbricoides* e de aeroalérgenos.

### 3 RESULTADOS

De 1.445 crianças participantes deste estudo, 1.271, que tinha dados completos para as variáveis estudadas foram incluídas na presente análise. Não foi encontrada uma diferença significativa entre os indivíduos excluídos (174) e as crianças estudadas. Em 2005, quando o trabalho foi realizado, elas tinha entre 4 e 11 anos de idade, sendo  $\leq 5$  anos (25,9%), entre 6-7 (40,5%) e  $> 7$  (33,5%). Crianças do sexo masculino representaram 54% da população estudada, 70,2% das mães tinham segundo grau incompleto ou menos e 29,8% tinha completado o segundo grau. A presença de asma parental foi encontrada em 13,5% das crianças. Com relação às infecções helmínticas detectou-se que 15,8% estavam infectados por *A. lumbricoides*, 13,8% por *T. trichiura* e 47,8% eram soropositivos para anticorpos contra *Toxocara* spp. Um total de 45,6% das crianças não apresentou infecção para nenhum dos helmintos, 36,4% possuía pelo menos uma infecção, 12,7% duas infecções e 5,2% três infecções por helmintos. Em 74,3% e 25,5% foram encontradas eosinofilia acima de 4% e acima de 10%, respectivamente. IgE total maior que 0,2  $\mu\text{g}$  foi encontrada em 59,7% das crianças. IgE específica (sIgE) com valores  $\geq 0,70$  KU / L e SPT positivo para pelo menos um alérgeno foram encontrados em 37,1% e 30%, respectivamente. Sibilância esteve presente em 22,7% das crianças, onde 12% apresentavam sibilo não atópico, 10,7% tinham sibilo atópico e em 26% atópicos não sibilantes (dados não mostrados).

O número de infecções foi estatisticamente e positivamente associado com eosinofilia maior que 4% e também maior que 10% de maneira dose-dependente (Tabela 1). A tabela 2 não mostrou nenhuma associação entre as infecções por helmintos e IgE específica para alérgenos. Entretanto, uma associação negativa, estatisticamente robusta, e dose-dependente foi encontrada entre o número de infecções por helmintos e a positividade ao teste cutâneo. Na tabela 3 pode-se observar ausência de associação entre infecções por helmintos e sibilância. A análise politômica dos fenótipos de asma também não demonstrou qualquer associação de entre atópicos e não atópicos, sibilância e tendo uma ou mais infecções.

Nas tabelas 4 e 5, as associações entre aqueles que tinham uma ou mais infecções helmínticas com a produção de citocinas pelas células obtidas de sangue total e estimuladas com antígenos de *A. lumbricoides* (Tabela 4), ou não estimuladas (Tabela 5). Nas culturas estimuladas, IL-5 foi positivamente associado de maneira dose-dependente nas crianças que tinham de uma

a três infecções e estas associações foram estatisticamente significativas nas análises bruta e ajustada apenas em crianças que tinha de duas a três infecções. A IL-10 foi associada positivamente com infecções por helmintos, mas foi somente estatisticamente significante na análise bruta em crianças com uma ou duas infecções e IL-13 foi associado positivamente nas análises bruta e ajustada, apenas nas crianças com três infecções (Tabela 4). Em culturas de células não estimuladas apresentou forte associação com IL-10 de maneira dose dependente nas análises bruta e ajustada nas crianças que tinham de uma a três infecções helmínticas e IFN- $\gamma$  teve associação positiva, mas sem significado estatístico em nenhuma das categorias de infecções em ambas as análises e IL-5 e IL-13 não mostraram qualquer associação com infecções por helmintos.

## REFERÊNCIAS

Alcantara-Neves NM, Badaro SJ, dos Santos MC, Pontes-de-Carvalho L, Barreto ML 2010. The presence of serum anti-*Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and/or atopy in preschool-aged Brazilian children. *Respiratory research*, 11, 114.

Alcantara-Neves NM, Veiga RV, Dattoli VC, Fiaccone RL, Esquivel R, Cruz AA, Cooper PJ, Rodrigues LC, Barreto ML 2012. The effect of single and multiple infections on atopy and wheezing in children. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 129, 359-367, 367 e351-353.

Anderson GP 2008. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *The Lancet*, 372, 1107-1119.

Araujo MI, Campos RA, Cardoso LS, Oliveira SC, Carvalho EM 2010. Immunomodulation of the allergic inflammatory response: new developments. *Inflammation & allergy drug targets*, 9, 73-82.

Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, Sousa-Atta L, Sole D, Carvalho EM 2000. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *International archives of allergy and immunology*, 123, 145-148.

Arima M, Fukuda T 2011. Prostaglandin D and T(H)2 inflammation in the pathogenesis of bronchial asthma. *Korean J Intern Med*, 26, 8-18.

Barreto ML, Cunha SS, Fiaccone R, Esquivel R, Amorim LD, Alvim S, Prado M, Cruz AA, Cooper PJ, Santos DN, Strina A, Alcantara-Neves N, Rodrigues LC 2010a. Poverty, dirt, infections and non-atopic wheezing in children from a Brazilian urban center. *Respiratory research*, 11, 167.

Barreto ML, Genser B, Strina A, Teixeira MG, Assis AM, Rego RF, Teles CA, Prado MS, Matos S, Alcantara-Neves NM, Cairncross S 2010b. Impact of a citywide sanitation program in Northeast Brazil on intestinal parasites infection in young children. *Environmental health perspectives*, 118, 1637-1642.

Bartunkova J, Kayserova J, Shoenfeld Y 2009. Allergy and autoimmunity: parallels and dissimilarity: the yin and yang of immunopathology. *Autoimmun Rev*, 8, 302-308.

dammer P, Waitz G, Loebermann M, Holtfreter MC, Maletzki C, Krueger MR, Nizze H, Emmrich J, Reisinger EC 2011. Schistosoma mansoni infection but not egg antigen promotes recovery from colitis in outbred NMRI mice. *Digestive diseases and sciences*, 56, 70-78.

Bousquet J, Kaltaev N 2007. *Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases : a comprehensive approach*. World Health Organization, Geneva, vii, 146 p. pp.

PORTARIA Nº 709, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2010 [homepage on the Internet]: Ministério da Saúde; 2010. Available from: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2010/prt0709\\_17\\_12\\_2010.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2010/prt0709_17_12_2010.html).

BRASIL. SUS: Internações por asma caem pela metade em 10 anos. 2011 12 mar 2012 [cited. Available from: [http://www.webradio.saude.gov.br/noticia.php?codigo\\_noticia=PDMS111095](http://www.webradio.saude.gov.br/noticia.php?codigo_noticia=PDMS111095).

Cardoso LS, Oliveira SC, Goes AM, Oliveira RR, Pacifico LG, Marinho FV, Fonseca CT, Cardoso FC, Carvalho EM, Araujo MI 2010. Schistosoma mansoni antigens modulate the allergic response in a murine model of ovalbumin-induced airway inflammation. *Clinical and experimental immunology*, 160, 266-274.

Cooper PJ 2008. Toxocara canis infection: an important and neglected environmental risk factor for asthma? *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 38, 551-553.

Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB 2003. Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 168, 313-317.

Cooper PJ, Chico ME, Guadalupe I, Sandoval CA, Mitre E, Platts-Mills TA, Barreto ML, Rodrigues LC, Strachan DP, Griffin GE 2011. Impact of early life exposures to geohelminth infections on the development of vaccine immunity, allergic sensitization, and allergic inflammatory diseases in children living in tropical Ecuador: the ECUAVIDA birth cohort study. *BMC infectious diseases*, 11, 184.

Cooper PJ, Rodrigues LC, Cruz AA, Barreto ML 2009. Asthma in Latin America: a public health challenge and research opportunity. *Allergy*, 64, 5-17.

Costa RdS, Brasil TC, Santos CdJ, Santos DB, Barreto ML, Neves NMA, Figueiredo CAVd 2010. Produtos naturais utilizados para tratamento de asma em crianças residentes na cidade de Salvador-BA, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20, 594-599.

Dagoye D, Bekele Z, Woldemichael K, Nida H, Yimam M, Hall A, Venn AJ, Britton JR, Hubbard R, Lewis SA 2003. Wheezing, allergy, and parasite infection in children in urban and rural Ethiopia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 167, 1369-1373.

Dattoli VC, Freire SM, Mendonca LR, Santos PC, Meyer R, Alcantara-Neves NM 2011. *Toxocara canis* infection is associated with eosinophilia and total IgE in blood donors from a large Brazilian centre. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, 16, 514-517.

Elias D, Britton S, Aseffa A, Engers H, Akuffo H 2008. Poor immunogenicity of BCG in helminth infected population is associated with increased in vitro TGF-beta production. *Vaccine*, 26, 3897-3902.

Endara P, Vaca M, Chico ME, Erazo S, Oviedo G, Quinzo I, Rodriguez A, Lovato R, Moncayo AL, Barreto ML, Rodrigues LC, Cooper PJ 2010. Long-term periodic anthelmintic treatments are associated with increased allergen skin reactivity. *Clin Exp Allergy*, 40, 1669-1677.

Feary J, Britton J, Leonardi-Bee J 2011. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 66, 569-578.

Feitosa CA, Santos DN, Barreto do Carmo MB, Santos LM, Teles CA, Rodrigues LC, Barreto ML 2011. Behavior problems and prevalence of asthma symptoms among Brazilian children. *J Psychosom Res*, 71, 160-165.

Figueiredo CA, Barreto ML, Rodrigues LC, Cooper PJ, Silva NB, Amorim LD, Alcantara-Neves NM 2010. Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. *Infection and immunity*, 78, 3160-3167.

Pocket Guide for Asthma Management and Prevention (for Adults and Children Older than 5 Years [homepage on the Internet]2011. Available from: [http://www.ginasthma.org/uploads/users/files/GINA\\_PocketGuide\\_2011.pdf](http://www.ginasthma.org/uploads/users/files/GINA_PocketGuide_2011.pdf).

Goodridge HS, Marshall FA, Else KJ, Houston KM, Egan C, Al-Riyami L, Liew FY, Harnett W, Harnett MM 2005. Immunomodulation via novel use of TLR4 by the filarial nematode phosphorylcholine-containing secreted product, ES-62. *J Immunol*, 174, 284-293.

Harnett W, Harnett MM 2009. Immunomodulatory activity and therapeutic potential of the filarial nematode secreted product, ES-62. *Adv Exp Med Biol*, 666, 88-94.



Home Page [homepage on the Internet]2011. Available from: <http://isaac.auckland.ac.nz/phases/phases.html>.

Kaplan AG, Balter MS, Bell AD, Kim H, McIvor RA 2009. Diagnosis of asthma in adults. *CMAJ*, 181, E210-220.

Kraneveld AD, van der Kleij HP, Kool M, van Houwelingen AH, Weitenberg AC, Redegeld FA, Nijkamp FP 2002. Key role for mast cells in nonatopic asthma. *J Immunol*, 169, 2044-2053.

Lee SI 2010. Prevalence of childhood asthma in Korea: international study of asthma and allergies in childhood. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2, 61-64.

Medeiros M, Jr., Figueiredo JP, Almeida MC, Matos MA, Araujo MI, Cruz AA, Atta AM, Rego MA, de Jesus AR, Taketomi EA, Carvalho EM 2003. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 111, 947-951.

Moncayo AL, Vaca M, Oviedo G, Erazo S, Quinzo I, Fiaccone RL, Chico ME, Barreto ML, Cooper PJ 2010. Risk factors for atopic and non-atopic asthma in a rural area of Ecuador. *Thorax*, 65, 409-416.

Oliveira RR, Gollob KJ, Figueiredo JP, Alcantara LM, Cardoso LS, Aquino CS, Campos RA, Almeida MC, Carvalho EM, Araujo MI 2009. *Schistosoma mansoni* infection alters co-stimulatory molecule expression and cell activation in asthma. *Microbes Infect*, 11, 223-229.

Pereira MU 2007. *A relação entre a asma não atópica e a exposição a infecções nos primeiros anos de vida em escolares de uma comunidade pobre do sul do Brasil*. Doctor, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 150 pp.

Pereira MU, Sly PD, Pitrez PM, Jones MH, Escouto D, Dias AC, Weiland SK, Stein RT 2007. Nonatopic asthma is associated with helminth infections and bronchiolitis in poor children. *Eur Respir J*, 29, 1154-1160.

Ponte JC, Junqueira SB, Veiga RV, Barreto ML, Pontes-de-Carvalho LC, Alcantara-Neves NM 2011. A study on the immunological basis of the dissociation between type I-hypersensitivity skin reactions to *Blomia tropicalis* antigens and serum anti-*B. tropicalis* IgE antibodies. *BMC Immunol*, 12, 34.

Regis SC, Mendonca LR, Silva Ndos S, Dattoli VC, Alcantara-Neves NM, Barrouin-Melo SM 2011. Seroprevalence and risk factors for canine toxocariasis by detection of specific IgG as a marker of infection in dogs from Salvador, Brazil. *Acta tropica*, 120, 46-51.

Rizzo MCFV, Fomin ABF 2005. Remodelamento das vias aéreas. *Rev. bras. alerg. imunopatol.*, 28, 230-234.

Rodrigues LC, Newcombe PJ, Cunha SS, Alcantara-Neves NM, Genser B, Cruz AA, Simoes SM, Fiaccone R, Amorim L, Cooper PJ, Barreto ML 2008. Early infection with *Trichuris trichiura* and allergen skin test reactivity in later childhood. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 38, 1769-1777.

Smits HH, Yazdanbakhsh M 2007. Chronic helminth infections modulate allergen-specific immune responses: Protection against development of allergic disorders? *Annals of medicine*, 39, 428-439.

Solé D, Melo KC, Camelo-Nunes IC, Freitas LS, Britto M, Rosario NA, Jones M, Fischer GB, Naspitz CK 2007. Changes in the prevalence of asthma and allergic diseases among Brazilian schoolchildren (13-14 years old): comparison between ISAAC Phases One and Three. *J Trop Pediatr*, 53, 13-21.

Stoten A, Huntley J, Mistry H, Harper S, Bundick R, Brown A, Pritchard DI 2005. Nonatopic allergen-independent mast cell activation in parasitized eosinophilic athymic rats. *Parasite Immunol*, 27, 431-438.

Turato G, Barbato A, Baraldo S, Zanin ME, Bazzan E, Lokar-Oliani K, Calabrese F, Panizzolo C, Snijders D, Maestrelli P, Zuin R, Fabbri LM, Saetta M 2008. Nonatopic children with multitrigger wheezing have airway pathology comparable to atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 178, 476-482.

Van Cauwenberge PB 1997. Nasal sensitization. *Allergy*, 52, 7-9.

van den Biggelaar AH, van Ree R, Rodrigues LC, Lell B, Deelder AM, Kremsner PG, Yazdanbakhsh M 2000. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet*, 356, 1723-1727.

Wammes LJ, Hamid F, Wiria AE, de Gier B, Sartono E, Maizels RM, Luty AJ, Fillie Y, Brice GT, Supali T, Smits HH, Yazdanbakhsh M 2010. Regulatory T cells in human geohelminth infection suppress immune responses to BCG and *Plasmodium falciparum*. *Eur J Immunol*, 40, 437-442.

Wenzel SE 2006. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet*, 368, 804-813.

Chronic respiratory diseases [homepage on the Internet]: WHO; 2011. Asthma. Available from: <http://www.who.int/respiratory/asthma/en/>

1 **3 MANUSCRITO**

2 **Title: Effects of helminth co-infections on atopy, asthma and cytokine production in**  
3 **children living in a poor urban area in Latin America**

4 Neuza Maria Alcântara-Neves MD, PhD<sup>a\*</sup> Gabriela de S G Britto BSc, MSc<sup>a</sup>; Rafael Valente  
5 Veiga BSc, MSc<sup>a</sup>; Camila AV Figueiredo BSc, PhD<sup>a</sup>; Rosimeire Leovigildo Fiaccone  
6 BScMat, PhD<sup>b</sup>; Renata Esquivel BScMat, MsC<sup>c</sup>; Jackson S. da Conceição BScMat<sup>c</sup>; Álvaro  
7 Augusto Cruz MD, PhD<sup>d</sup>; Laura Cunha Rodrigues MD, PhD<sup>e</sup>; Lain C.Pontes-de-Carvalho,  
8 MD, PhD<sup>f</sup>, Philip John Cooper MD, PhD<sup>g,h,i</sup>, Maurício Lima Barreto MD, PhD<sup>c</sup>

9

10 <sup>a</sup>Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde; Universidade  
11 Federal da Bahia, Brazil;

12 <sup>b</sup>Instituto de Matemática, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil;

13 <sup>c</sup>Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil;

14 <sup>d</sup>ProAR – Núcleo de Excelência em Asma, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brazil;

15 <sup>e</sup> London School of Hygiene and Tropical Medicine, University of London, London, United  
16 Kingdom;

17 <sup>f</sup>Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil.;

18 <sup>g</sup>Colegio de Ciencias de la Salud, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador;

19 <sup>h</sup>Escuela de Biología, Pontificia Universidad Católica Del Ecuador, Quito, Ecuador

20 <sup>i</sup>Molecular and Biochemical Parasitology, Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool,  
21 UK.

22 \* *Corresponding author:*

23

24 *Neuza M. Alcântara-Neves*

25 Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia

26 Avenida Reitor Miguel Calmon, sem nº, Canela, CEP – 40110-100

27 Salvador, Bahia, Brazil

28 E-mail: [neuzalcantara@gmail.com](mailto:neuzalcantara@gmail.com)

29 Fone : 5571.3283.8932

30

31 Other authors' e-mails:

32 GB: [gabritoo@hotmail.com](mailto:gabritoo@hotmail.com)

33 JS: [j-santos1013@hotmail.com](mailto:j-santos1013@hotmail.com)

34 RE : [rme86@hotmail.com](mailto:rme86@hotmail.com)

35 RVV: [rafael.veiga@uol.com.br](mailto:rafael.veiga@uol.com.br)

36 RF: [r\\_fiaccone@hotmail.com](mailto:r_fiaccone@hotmail.com)

37 CAV: [cavfigueiredo@gmail.com](mailto:cavfigueiredo@gmail.com)

38 AAC: [cruz.proar@gmail.com](mailto:cruz.proar@gmail.com)

39 LCR: [laura.rodriques@lshtm.ac.uk](mailto:laura.rodriques@lshtm.ac.uk)

40 LCPC: [lain@bahia.fiocruz.br](mailto:lain@bahia.fiocruz.br)

41 PJC: [p.j.cooper@liverpool.ac.uk](mailto:p.j.cooper@liverpool.ac.uk)

42 MLB: [mauricio@ufba.br](mailto:mauricio@ufba.br)

43

44 **ABSTRACT**

45 **Background:** Helminths are modulators of the immune system and have been associated with  
46 protection against inflammatory diseases.

47

48 **Objectives:** To investigate how co-infections with *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*  
49 and *Toxocara* spp. affect markers of allergic inflammation and asthma in children.

50

51 **Methods:** Blood eosinophils, total IgE, allergen-specific IgE (sIgE), anti-*Toxocara* IgG anti-  
52 bodies and peripheral blood cell cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-13 and IL-10) were measured.  
53 Skin prick test (SPT) reactivity to aeroallergens and intestinal helminth infections were as-  
54 sessed. Data on asthma were collected.

55

56 **Results:** Children infected by one parasite were 36.4%; by two 12.7% and by three 5.2%.  
57 Eosinophilia >4% and >10% occurred in 74.3% and 25.5% of the children, respectively. Total  
58 IgE >0.2  $\mu\text{g/mL}$ , sIgE  $\geq 0.70$  kU/L and SPT positivity were found in 59.7%, 37.1% and 30% of  
59 the children, respectively. 22.7% had recent asthma (12.0% non-atopic and 10.7% atopic).  
60 Helminth infections were associated with greater eosinophilia, higher levels of total IgE, low-  
61 er prevalence of SPT and a modified Th2 cytokine response, but no associations with asthma  
62 were observed.

63

64 **Conclusion:** Helminth co-infections in this population increase markers of Th2 immune re-  
65 sponses, and induce immune regulatory mechanisms that may suppress allergic effector re-  
66 sponses such as immediate hypersensitivity reactions in the skin.

67

68 **KEY WORDS:** Helminths, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Toxocara* spp, hel-  
69 minth infections, eosinophilia, IgE, skin prick test, atopy, asthma, allergy, and cytokines.

70

## 71 **ABBREVIATIONS**

72

73 CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

74 CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

75 FAPESB: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia

76 FcεRI: High-affinity IgE receptor

77 IFN-γ: Interferon-gamma

78 IgE: Immunoglobulin E

79 IgG: Immunoglobulin G

80 IL-Interleukin

81 INCT: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia

82 ISAAC: International Study of Asthma and Allergies in Childhood

83 MCT: Ministério da Ciência e Tecnologia

84 OR: *Odds ratio*

85 PBLs: Peripheral Blood Leukocytes

86 ProAR: Programa de Controle da Asma e da Rinite Alérgica na Bahia

87 SCAALA: Social Change of Asthma and Allergy in Latin America

88 sIgE: Aeroallergen-specific immunoglobulin E

89 SPT: Skin Prick Test

90 STATA: Data Analysis and Statistical Software package

91 TGF-β: Transforming growth factor beta

92 Th2: T helper 2

93 TcESLA: Excretory/secretory products of *T. canis* larvae

94

95 **Financial Disclosure**

96

97 This study form part of SCAALA (Social Change of Asthma and Allergy in Latin America)  
98 Program, funded by the Wellcome Trust (Grant no. 072405/Z/03/Z) and INCT/MCT/CNPq  
99 Program (Contract no. 5737862008-9). CNPq, CAPES, FAPESB and Wellcome Trust (Grant  
100 no. 088862/Z/09/Z) scholarships supported NMAN, GSGB, RVV, AAC, LCPC, MLB and  
101 PJC. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to pub-  
102 lish, or preparation of the manuscript.

103



## 104 INTRODUCTION

105

106 Infections with helminths that inhabit the vasculature or tissues of the host such as *Schistosoma*  
107 *spp.* and filarial parasites have potent modulatory effects on the immune system of hu-  
108 mans and experimental animals [1]. In children, such infections have been associated with the  
109 suppression of the immune response to vaccines [2], decreased skin hypersensitivity to aeroal-  
110 lergens [3, 4], a milder form of asthma [5], and a reduction of inflammation in an animal  
111 model of autoimmune disease [6].

112 Although some studies in humans have shown that infections with intestinal helminths such  
113 as *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* are associated with immune modulation [7]  
114 and the downregulation of atopy [8], studies of the effect of these parasites on asthma preva-  
115 lence have been inconsistent, with some studies demonstrating a reduced prevalence [9], oth-  
116 ers no association [10], and others an increased risk [11, 12]. These discrepancies have been  
117 attributed to differences between populations with respect to the parasites present, timing of  
118 first infections, size of worm burdens and infection chronicity [1]. For example, Rodrigues  
119 and collaborators [8] showed that children who had infections with *T. trichiura* in early child-  
120 hood had a reduced prevalence of skin test reactivity to aeroallergens later in childhood, while  
121 in the same population, Alcântara-Neves and collaborators [11] reported a positive association  
122 between *T. trichiura* infection and wheeze symptoms when the children were of pre-school  
123 age.

124 The prevalence of infection with intestinal helminths is decreasing in large cities of develop-  
125 ing countries, where sanitation has been introduced [13]. However, infections with *Toxocara*  
126 *spp.* (*T. canis* and *T. cati*) are highly prevalent in such environments, since they are not affect-  
127 ed by sanitation. A decrease in the prevalence of toxocariasis depends on the control of stray  
128 animals and antihelminthic treatment of pets to prevent the exposure of children to this para-

129 site, neither of which are easy to achieve [14]. In the Brazilian city of Salvador, where the  
130 present study was done, Datolli and collaborators [15] found a *Toxocara* infection seropreva-  
131 lence of 46 % in blood donors who were not infected with intestinal helminths. Seropositive  
132 individuals were more likely to have elevated allergic markers of blood eosinophilia and total  
133 IgE. Previous studies have indicated that individuals with toxocariasis may have an increased  
134 risk of atopy and asthma [16].

135 We have shown previously that pathogens causing chronic infections, including intestinal  
136 helminths [17] and *Toxocara* spp [18], can modulate atopy in children but not wheezing. In  
137 the present study, we investigated the effects of single and co-infections with intestinal para-  
138 sites (*A. lumbricoides* and *T. trichiura*) and *Toxocara* spp. on several outcomes, including  
139 blood eosinophils total and allergen-specific IgE, skin reactivity to aeroallergen, atopic and  
140 non-atopic asthma and cytokine responses in children living in a poor neighborhoods in a  
141 Brazilian city.

142

## 143 **MATERIALS AND METHODS**

144

### 145 **Study design, population and data collection**

146

147 We analysed data collected from 1,271 out of 1,445 children aged 4-11 years, enrolled in the  
148 SCAALA Program (Social Change in Asthma and Allergies in Latin America) [19]. One  
149 hundred and seventy-four of the 1,445 children were excluded because of missing data. The  
150 study population comprised a cohort of children living in 24 micro-areas in poor neighbor-  
151 hoods scattered throughout the city, originally constituted to evaluate the impact of a sanita-  
152 tion program on health outcomes when the children were aged 0-4 years [20]. Allergic out-  
153 comes were evaluated in the cohort when the children were aged 4-11 years in 2005 using an

154 ISAAC phase II questionnaire translated into Portuguese. Social, demographic and environ-  
155 mental data were collected using validated questionnaires.

156

### 157 **Blood collection and skin prick test (SPT)**

158

159 The children were evaluated by a medical team composed of a doctor, a nurse and a laborato-  
160 ry technician, in a mobile clinic, that visited each study neighborhood, where blood was col-  
161 lected and skin prick testing for relevant aeroallergens was done. Heparinized blood was col-  
162 lected for differential blood cell counts using in an automated counter (Counter Electronics,  
163 Hialeah, FL, USA), for the preparation of plasma used for measurement of total and allergen-  
164 specific IgE (sIgE) and IgG antibodies against specific pathogens, including *Toxocara* spp,  
165 and for whole blood cultures for measurement of cytokines.

166 SPTs were done on the right forearm of each child using extracts of *Dermatophagoides pter-*  
167 *onyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*, fungi, cat and dog  
168 danders (all from ALK-Abello, São Paulo, Brazil). Saline and 10 mg/mL histamine solution  
169 were used as negative and positive controls, respectively. Reactions were read after 15  
170 minutes and a mean wheal diameter size of at least 3 mm greater than the negative control  
171 was considered positive. Frequencies of positive skin test reactions to dog and cat epithelia  
172 and a fungal allergen mix were low (<4%) and were excluded from further analysis.

173

### 174 **Laboratory measurements**

175

### 176 **Parasitological analysis**

177

178 Two stool samples were collected from each child two days apart and analyzed using the  
179 gravitational sedimentation and Kato-Katz [21] techniques to detect eggs of *A. lumbricoides*,  
180 *T. trichiura*, hookworms and *S. mansoni*. Because hookworm (0.1%), *Enterobius vermicularis*  
181 (1.4%), *Strongyloides stercoralis* (0%) and *S. mansoni* (0%), were rare or absent in the  
182 study population, they were excluded from the analysis and only *A. lumbricoides* and *T.*  
183 *trichiura* were considered in the present analysis.

184

### 185 **Detection of total and specific IgE**

186

187 The measurement of total IgE was performed as previously described [7]. The assay cut-off  
188 (0.2 µg/ml) was the 75<sup>th</sup> centile of values obtained from 54 sera from children with three neg-  
189 ative stool samples collected serially, specific IgE levels <0.35kU/L, and <0.2% eosinophilia  
190 in peripheral blood.

191 Measurement of specific IgE (sIgE) against *B. tropicalis*, *D. pteronyssinus*, *P. americana*, *B.*  
192 *germanica* was done using the ImmunoCAP assay (Phadia Diagnostics AB, Uppsala, Swe-  
193 den). These mite and cockroach allergens were chosen to measure atopy based on previous  
194 findings from allergen skin prick testing that showed these to be the most frequently recog-  
195 nized aeroallergens in our study population. A serum sample was considered positive if sIgE  
196 for any of the four allergens was  $\geq 0.70$ kU/L.

197

### 198 **Definition of asthma and atopy**

199

200 Children were classified as having asthma if parents/guardians reported wheezing in the pre-  
201 vious 12 months and at least one of the following: diagnosis of asthma ever, wheezing with  
202 exercise in the last 12 months, four or more episodes of wheezing in the last 12 months, and

203 waking up at night because of wheezing in the last 12 months. These criteria are more specific  
204 than wheezing in the last 12 months, the most common criterion used for ISAAC studies. All  
205 other children were classified as non-asthmatic.

206

207 Since the prevalence of sIgE for each of the studied allergens was greater than the SPT preva-  
208 lence and the frequencies of SPT positivity among those without sIgE was very low [fungi  
209 (0.5%), dog epithelium (1.1%) and cat epithelium (0.9%)], atopy was defined as the presence  
210 of at least one sIgE  $\geq 0.70$  kU/L irrespective of SPT results. Atopic and non-atopic asthma  
211 cases were defined by the presence of symptoms of asthma as defined above in the presence  
212 or absence, respectively, of sIgE  $\geq 0.70$  kU/L for any of the tested aeroallergens.

213

#### 214 **Absorption of sera with *A. lumbricoides* and *T. trichiura* extracts and detection of serum** 215 **anti-*Toxocara* IgG antibodies**

216

217 To eliminate reactivity against antigenic determinants shared by the ascarid worms *A. lumbricoides*  
218 and *Toxocara* spp., human sera were absorbed with somatic antigen of *A. lumbricoides*  
219 before measurement of anti-*Toxocara* IgG. The *A. lumbricoides* somatic antigen was prepared  
220 as described previously [15]. Because 10.7% of the children were infected with *T. trichiura*,  
221 some samples of the studied sera were also absorbed with this parasite extract and compared  
222 to the same sera absorbed with *A. lumbricoides* alone or with both parasites, but because ab-  
223 sorption with *A. lumbricoides* alone or with both parasites provided comparable titers of anti-  
224 *Toxocara* IgG, the remaining sera were absorbed with *A. lumbricoides* antigen alone.

225 The detection of anti-*Toxocara* IgG antibodies was carried out as previously described by  
226 Savigny and Tizard [22], with modifications, as reported previously [15]. Excretory/secretory  
227 products of *Toxocara canis* larvae (TcESLA) used in this assays were obtained as described

228 previously [23]. The cut-off of this assay was the mean plus three standard deviations of re-  
229 sults obtained from sera from 20 negative control children with no history of contact with  
230 dogs and cats, attending a private hospital. Because this assay does not discriminate infection  
231 caused by *T. canis* or *T. cati*, we used the results of this assay as marker of past or present  
232 infection with both or any of the two *Toxocara* species [24].

233

### 234 **Cytokine production by whole blood cultures stimulated with medium alone or with *A.*** 235 ***lumbricoides***

236

237 Whole blood cultures were done as described previously [7]. Cytokine concentrations were  
238 measured using commercial assays as recommended (R&D Systems, Minneapolis, USA). The  
239 detection limits (low/high) in pg/mL for each cytokine were as follows: IL-5 (15.6/500), IL-  
240 13 (62.5/4,000), IFN- $\gamma$  (18.5/300), and IL-10 (31.3/500). Responders were defined as those  
241 children with cytokine concentrations above the lower detection limits.

242

### 243 **Statistical Analysis**

244

245 For associations between burden of helminthic infection and eosinophilia, total IgE, aeroaller-  
246 gen-specific IgE and SPT, and asthma and cytokine responder status, univariate and multivar-  
247 iate analyses were done using logistic regression with robust estimators for micro-areas to  
248 adjust for clustering. However, because models with and without adjustment for clustering  
249 showed similar results only unadjusted results are shown.

250 For the associations between the burden of helminth infection and the different asthma pheno-  
251 types (atopic vs. non-atopic), polytomous logistic regression analyses were done as described  
252 previously [25]. Based upon previous analyses in this population, *a priori* confounders for the

253 association between helminth infections and outcomes were gender, age, maternal educational  
254 level, and parental asthma [17]. P values of <0.05 were considered statistically significant.

255

## 256 **Ethical considerations**

257

258 Ethical approval was provided by the Ethics Committee of the Instituto de Saúde Coletiva,  
259 Universidade Federal da Bahia and by the Brazilian National Ethics Committee. Written, in-  
260 formed consent detailing all procedures to be carried out on the children was signed by a par-  
261 ent or the legal guardian of each child.

262

## 263 **RESULTS**

264

265 Of the 1,445 children enrolled in this study, 1,271 with complete outcome data were analyzed.  
266 Analyses for associations with eosinophilia were done for 1,155 of the latter with data for this  
267 variable. No statistically significant differences were seen between the 174 excluded children  
268 and those included with respect to important baseline variables (data not shown). The ana-  
269 lyzed children were aged between 4 and 11 years with the following age distribution:  $\leq 5$  years  
270 (25.9%), between 6-7 (40.5%) and  $>7$  (33.5%). 54 % of the children were male; 70.2% of  
271 mothers had not completed second grade; and parental asthma was reported for 13.5% of  
272 children. With respect to helminth infections: 15.8% were infected with *A. lumbricoides*,  
273 13.8% with *T. trichiura* and 47.8% were seropositive for *Toxocara* spp antibodies; 45.6% of  
274 children had no helminth infection, 36.4% had one, 12.7 % had two and 5.2 % had three hel-  
275 minth infections. The prevalence of allergic-type outcomes in the study population were: eo-  
276 sinophilia of  $>4\%$  and  $>10\%$  was observed in 74.3% and 25.5% of children, respectively;  
277 total IgE  $\geq 0.2$   $\mu\text{g/mL}$  was present in 59.7%; sIgE  $\geq 0.70$  kU/L and SPT positivity for at least

278 one allergen were found in 37.1% and 30% respectively; 22.7% had asthma, with 12% having  
279 non-atopic asthma, and 10.7 % atopic asthma; 26% of children were atopic but not asthmatic  
280 (data not shown).

281

282 The number of helminth infections was positively and statistically associated with eosinophil-  
283 ia at >4 and >10% and the presence of elevated total IgE in a dose-dependent manner (Table  
284 1). Table 2 shows that there was no statistically significant association between helminth in-  
285 fections and the presence of sIgE but there was a statistically significant inverse association  
286 with SPT positivity, which were stronger with increasing number of infections. Table 3 shows  
287 that the number of helminth infections was not significantly associated with asthma, irrespec-  
288 tive of atopic status, although a non-significant trend of increased risk was observed for non-  
289 atopic asthma.

290

291 Tables 4 and 5 show associations between having one or more helminth infections and cyto-  
292 kine production by peripheral blood leukocytes (PBLs) in whole blood cultures stimulated  
293 with *A. lumbricoides* (Table 4) or in the presence of medium alone (Table 5). In whole blood  
294 cultures stimulated with *A. lumbricoides* antigen, the production of IL-5 was positively asso-  
295 ciated with increasing number of helminth infections. Although IL-10 was associated with  
296 helminth infections, this association was not significant after adjustment for confounders; and  
297 IL-13 production was significantly associated with having three helminth infections. In the  
298 case of spontaneous cytokine production, IL-10, but none of the other cytokines, was associ-  
299 ated with helminth infections, i.e., children with increasing number of infections were more  
300 likely to be IL-10 cytokine responders.

301

302 **DISCUSSION**



303

304 This study was conducted in Salvador, a city located in the northeastern coastal region of Bra-  
305 zil with a population of over 2.8 million and with a high reported prevalence of asthma in  
306 previous surveys [26]. To study the potential role of helminth infections in the high preva-  
307 lence of allergy and asthma, in the present study we explored the effects of single or multiple  
308 helminth co-infections with *A. lumbricoides*, *T. trichiura* and *Toxocara* spp., on the occur-  
309 rence of several allergy-associated outcomes, including eosinophilia, total and specific IgE,  
310 asthma, and the production of Th2 and regulatory cytokines in whole blood cultures. We ob-  
311 served a strong positive association between number of helminth infections and peripheral  
312 blood eosinophilia, elevated total IgE, spontaneous production of IL-10 and helminth antigen-  
313 stimulated production of Th2 cytokines. The number of helminth infections was strongly in-  
314 versely associated with allergen SPT but had no significant effect on the risk of asthma.

315

316 Studies of the associations between helminth infections and allergy have shown inconsistent  
317 findings, although, in general, an increased risk of asthma have been associated with *A. lum-*  
318 *bricoides* infection [27] while reduced allergen SPT has been associated with intestinal hel-  
319 minth infections in general [28]. Systemic helminth infections (e.g. with *Schistosoma* spp)  
320 have been associated with a decreased frequency of SPT [3, 4, 29] and an attenuated form of  
321 asthma [5], while *Toxocara* species, which also cause systemic infections, although not  
322 adapted to the human host and unable to develop beyond the larval stage, have been associat-  
323 ed with increased atopy [30] and asthma [31] in some but not all studies [32]. We have re-  
324 ported previously that human infections with *Toxocara* [18] and intestinal helminths [8] [17]  
325 are inversely associated with SPT in this study population but that *T. trichiura* infection and  
326 the presence of anti-*Ascaris* IgE were associated with asthma [11] in the same population  
327 when the children were younger.

328

329 Although helminth parasite infections may protect their hosts against inflammatory diseases,  
330 they have also been associated with significant morbidity and economic losses through effects  
331 on nutrition, impaired school performance [33] and reduced efficacy of routine vaccination  
332 programs [2]. A better understanding of parasite effects on the host immune response is,  
333 therefore, of considerable relevance not only to improve strategies for helminth control but  
334 also for the development of novel treatments for inflammatory diseases such as allergic and  
335 autoimmune diseases based on the isolation of parasite molecules with therapeutic potential  
336 [6, 34]. Previous studies of the effects of infections on atopy and allergy have studied virus,  
337 bacterial and protozoa infections in developed countries [35-37] and one study also studied  
338 helminth infections in a developing country setting [17]. However, to the best of our  
339 knowledge, no previous study has examined the effects of co-infections with intestinal and  
340 systemic helminth infections on the modulation of atopic and allergic disease markers as done  
341 in the present study.

342

343 Helminth infection are believed to induce an immune response which is distinct from that  
344 produced in response to other chronic pathogens (e.g. protozoa, viruses and bacteria) in that  
345 chronic helminth infections and co-infections [1, 7, 38, 39] are characterized by strong Th2  
346 responses in which various Th2 inflammatory markers such as eosinophilia and increased  
347 serum IgE levels are prominent. In this study, we observed a strong Th2 cytokine response by  
348 PBLs stimulated with *A. lumbricoides* antigen, which may explain the increased eosinophilia  
349 and levels of total IgE observed in helminth-infected children. These data thus support a large  
350 body of literature showing that helminth infections induce potent Th2-type immune responses  
351 [38]. The prominent IgE response, that is predominantly polyclonal, has been suggested to  
352 play a role in the down-modulation of skin reactivity to allergens through the saturation of

353 high-affinity IgE receptors (Fc $\epsilon$ RI) on mast cells thus limiting the potential for interaction  
354 between allergens and specific IgE on mast cells [3, 40]. However, it has been shown that  
355 interference of allergen-specific response by polyclonal IgE only occurs at levels that are rare-  
356 ly present in human populations [41].

357

358 In the present study, we observed a robust association between helminth co-infections and  
359 frequency of the production of spontaneous IL-10 by PBLs, while helminth-antigen induced  
360 strong Th2 cytokine responses but relatively little IL-10. The effect on spontaneous IL-10  
361 production was greater with increasing number of helminth infections. The failure of *A. lum-*  
362 *bricoides* antigen to stimulate IL-10 production by the helminth-infected children's PBLs *in*  
363 *vitro* was unexpected. A possible explanation is that infections with complex organisms such  
364 as helminths and other parasites, are likely to stimulate the immune system with hundreds of  
365 antigens. The greater the number of infections the greater the overall stimulation and such  
366 stimulation could expand and activate populations of regulatory T cells (Tregs) [42], with  
367 many of them possibly being stimulated by antigens that share cross-reactivity with autoanti-  
368 gens [42], which in turn could maintain the Tregs in an activated state Infection with hel-  
369 minths have in fact been associated with increased numbers of circulating CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>  
370 FoxP3<sup>+</sup> Tregs and of autoantigen-stimulated PBLs that secrete IL-10 and TGF- $\beta$ , as well as  
371 with amelioration of symptoms, in multiple sclerosis patients [43] and improvements in hy-  
372 giene, associated with fewer infections by parasites and other pathogens, have been associated  
373 previously with increased prevalence of autoimmune diseases [44]. This increased stimulation  
374 of cross-reactive Tregs due to past or present helminth infections could explain the spontane-  
375 ous production of IL-10 observed in the present study (which would be autoantigen-driven).  
376 As these cells would already have been antigen-stimulated *in vivo*, they would not be stimu-  
377 lated by *A. lumbricoides* antigens *in vitro* (Figure). In fact, we have observed previously, in

378 this study population, an increased frequency of the production of IL-10 spontaneously  
379 among the children living in conditions of poor hygiene and with intestinal helminth infec-  
380 tions [7, 45]. The induction of regulatory mechanisms, exemplified by elevated production of  
381 the immune regulatory cytokine IL-10 by non-stimulated cells, has been attributed to living in  
382 environments with low hygiene and intense microbial and helminth exposure during child-  
383 hood – the decline in such exposures in many populations living in affluent countries and the  
384 increase in the prevalence of inflammatory diseases is considered, as suggested by the hy-  
385 giene hypothesis, to be a consequence of a failure in microbe/parasite-induced immune regu-  
386 lation [46].

387

388 We hypothesize that spontaneous IL-10 may play a role in suppressing effector function of  
389 mast cells and, consequently, skin prick test reactivity. As expected, no association was found  
390 between helminth co-infections and IFN- $\gamma$  production by PBLs spontaneously and in response  
391 to *A. lumbricoides* antigen. Besides that, no statistically significant association was found  
392 with sIgE, although a trend of decreasing odds ratios with increasing number of infections  
393 was seen. It appears, therefore, that helminth infection do not down-modulate sIgE but instead  
394 up-regulate helminth-specific or non-specific polyclonal IgE [41].

395

396 Although atopic markers are modulated by helminth infection, no association was found be-  
397 tween helminth co-infections and asthma (atopic and non-atopic). Asthma is a complex dis-  
398 ease and differences in asthma phenotypes between different populations may explain differ-  
399 ences in the effects of helminth infections on asthma observed between studies, [47]. The lack  
400 of association between asthma and parasites found in this study may be result of the predomi-  
401 nance of non-atopic asthma found in this population [48], since many studies have shown that

402 infections, including those caused by helminths, protect against atopy and atopic asthma [[1](#), [3](#),  
403 [4](#), [17](#)].

404

405 In summary, our data show strong associations between helminth infections, eosinophilia, and  
406 total IgE and an inverse association between helminth infections and SPT in helminth-  
407 infected children. To our knowledge, this is the first study to show that an increasing number  
408 of helminth infections has a dose-response effect on these allergic inflammatory markers. Our  
409 data demonstrate also that helminth infection, and especially multiple infections, are associat-  
410 ed with a typical Th2 immune response (e.g. the production of Th2 cytokines by PBLs stimu-  
411 lated with helminth antigens and peripheral blood eosinophilia) but that such infections are  
412 associated with the upregulation of the regulatory network with an increase in IL-10 produc-  
413 tion which could play a role in the suppression of immediate hypersensitivity reactions in the  
414 skin. Further studies are needed to understand the molecular mechanisms by which this im-  
415 mune modulation occurs and they could test our hypothesis that helminth infections in early  
416 childhood may induce cross-reactive populations of regulatory immune cells that are main-  
417 tained by self antigens and serve to dampen inflammatory responses to both endogenous and  
418 exogenous stimuli.

419

#### 420 **CONFLICT OF INTEREST**

421

422 All authors declare they have no competing financial interests.

423

#### 424 **ACKNOWLEDGEMENTS**

425

426 We thank the families whose children participated in this study, the individuals who contrib-  
427 uted directly or indirectly to this study, including laboratory technicians, field workers, and  
428 students. The Wellcome Trust (grants 072405/Z/03/Z and 088862/Z/09/Z) and the Brazilian  
429 agencies CAPES, CNPQ, and FAPESB are also acknowledged for funding and providing  
430 fellowships for some of the study researchers.

431

## 432 **REFERENCES**

433

- 434 1. Smits HH, Yazdanbakhsh M. Chronic helminth infections modulate allergen-specific im-  
435 mune responses: Protection against development of allergic disorders? *Annals of medicine*  
436 **2007**; 39:428-39.
- 437 2. Cooper PJ, Chico ME, Guadalupe I, et al. Impact of early life exposures to geohelminth  
438 infections on the development of vaccine immunity, allergic sensitization, and allergic in-  
439 flammatory diseases in children living in tropical Ecuador: the ECUAVIDA birth cohort  
440 study. *BMC infectious diseases* **2011**; 11:184.
- 441 3. van den Biggelaar AH, van Ree R, Rodrigues LC, et al. Decreased atopy in children infect-  
442 ed with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. *Lancet* **2000**;  
443 356:1723-7.
- 444 4. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, et al. Inverse association between skin response to  
445 aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *International archives of allergy and im-*  
446 *munology* **2000**; 123:145-8.
- 447 5. Medeiros M, Jr., Figueiredo JP, Almeida MC, et al. *Schistosoma mansoni* infection is asso-  
448 ciated with a reduced course of asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* **2003**;  
449 111:947-51.

- 450 6. Bodammer P, Waitz G, Loebermann M, et al. Schistosoma mansoni infection but not egg  
451 antigen promotes recovery from colitis in outbred NMRI mice. Digestive diseases and sci-  
452 ces **2011**; 56:70-8.
- 453 7. Figueiredo CA, Barreto ML, Rodrigues LC, et al. Chronic intestinal helminth infections are  
454 associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. Infection  
455 and immunity **2010**; 78:3160-7.
- 456 8. Rodrigues LC, Newcombe PJ, Cunha SS, et al. Early infection with Trichuris trichiura and  
457 allergen skin test reactivity in later childhood. Clinical and experimental allergy : journal of  
458 the British Society for Allergy and Clinical Immunology **2008**; 38:1769-77.
- 459 9. Dagoye D, Bekele Z, Woldemichael K, et al. Wheezing, allergy, and parasite infection in  
460 children in urban and rural Ethiopia. American journal of respiratory and critical care medi-  
461 cine **2003**; 167:1369-73.
- 462 10. Cooper PJ, Chico ME, Bland M, Griffin GE, Nutman TB. Allergic symptoms, atopy, and  
463 geohelminth infections in a rural area of Ecuador. American journal of respiratory and critical  
464 care medicine **2003**; 168:313-7.
- 465 11. Alcantara-Neves NM, Badaro SJ, dos Santos MC, Pontes-de-Carvalho L, Barreto ML.  
466 The presence of serum anti-Ascaris lumbricoides IgE antibodies and of Trichuris trichiura  
467 infection are risk factors for wheezing and/or atopy in preschool-aged Brazilian children.  
468 Respiratory research **2010**; 11:114.
- 469 12. Feary J, Britton J, Leonardi-Bee J. Atopy and current intestinal parasite infection: a sys-  
470 tematic review and meta-analysis. Allergy **2011**; 66:569-78.
- 471 13. Barreto ML, Genser B, Strina A, et al. Impact of a citywide sanitation program in North-  
472 east Brazil on intestinal parasites infection in young children. Environmental health perspecti-  
473 ves **2010**; 118:1637-42.

- 474 14. Regis SC, Mendonca LR, Silva Ndos S, Dattoli VC, Alcantara-Neves NM, Barrouin-Melo  
475 SM. Seroprevalence and risk factors for canine toxocariasis by detection of specific IgG as a  
476 marker of infection in dogs from Salvador, Brazil. *Acta tropica* **2011**; 120:46-51.
- 477 15. Dattoli VC, Freire SM, Mendonca LR, Santos PC, Meyer R, Alcantara-Neves NM. Toxo-  
478 cara canis infection is associated with eosinophilia and total IgE in blood donors from a large  
479 Brazilian centre. *Tropical medicine & international health : TM & IH* **2011**; 16:514-7.
- 480 16. Cooper PJ. Toxocara canis infection: an important and neglected environmental risk factor  
481 for asthma? *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and*  
482 *Clinical Immunology* **2008**; 38:551-3.
- 483 17. Alcantara-Neves NM, Veiga RV, Dattoli VC, et al. The effect of single and multiple in-  
484 fections on atopy and wheezing in children. *The Journal of allergy and clinical immunology*  
485 **2012**; 129:359-67, 67 e1-3.
- 486 18. Mendonca LR, Veiga RV, Dattoli VC, et al. Toxocara seropositivity, atopy and wheezing  
487 in children living in poor neighbourhoods in urban Latin American. *PLoS neglected tropical*  
488 *diseases* **2012**; 6:e1886.
- 489 19. Barreto ML, Cunha SS, Alcantara-Neves N, et al. Risk factors and immunological path-  
490 ways for asthma and other allergic diseases in children: background and methodology of a  
491 longitudinal study in a large urban center in Northeastern Brazil (Salvador-SCAALA study).  
492 *BMC pulmonary medicine* **2006**; 6:15.
- 493 20. Barreto ML, Genser B, Strina A, et al. Effect of city-wide sanitation programme on reduc-  
494 tion in rate of childhood diarrhoea in northeast Brazil: assessment by two cohort studies. *Lan-*  
495 *cet* **2007**; 370:1622-8.
- 496 21. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear techni-  
497 que in Schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*  
498 **1972**; 14:397-400.



- 499 22. de Savigny DH TI. Serodiagnosis of *Toxocara larva migrans visceral*. *Candian Journal of*  
500 *Public Health* **1975**; 66:52-6.
- 501 23. Savigny DH. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the  
502 production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans.  
503 *The Journal of parasitology* **1975**; 61:781-2.
- 504 24. Kennedy MW, Maizels RM, Meghji M, Young L, Qureshi F, Smith HV. Species-specific  
505 and common epitopes on the secreted and surface antigens of *Toxocara cati* and *Toxocara*  
506 *canis* infective larvae. *Parasite immunology* **1987**; 9:407-20.
- 507 25. Barreto ML, Cunha SS, Fiaccone R, et al. Poverty, dirt, infections and non-atopic wheez-  
508 ing in children from a Brazilian urban center. *Respiratory research* **2010**; 11:167.
- 509 26. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis,  
510 and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood  
511 (ISAAC) Steering Committee. *Lancet*. 1998/06/27 ed. Vol. 351, **ISAAC 1998**:1225-32.
- 512 27. Leonardi-Bee J, Pritchard D, Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection:  
513 systematic review and meta-analysis. *American journal of respiratory and critical care medi-*  
514 *cine* **2006**; 174:514-23.
- 515 28. Feary JR, Venn AJ, Mortimer K, et al. Experimental hookworm infection: a randomized  
516 placebo-controlled trial in asthma. *Clinical and experimental allergy : journal of the British*  
517 *Society for Allergy and Clinical Immunology* **2010**; 40:299-306.
- 518 29. Supali T, Djuardi Y, Wibowo H, van Ree R, Yazdanbakhsh M, Sartono E. Relationship  
519 between different species of helminths and atopy: a study in a population living in helminth-  
520 endemic area in Sulawesi, Indonesia. *International archives of allergy and immunology* **2010**;  
521 153:388-94.
- 522 30. Buijs J, Borsboom G, Renting M, et al. Relationship between allergic manifestations and  
523 *Toxocara* seropositivity: a cross-sectional study among elementary school children. *The Eu-*

524 ropean respiratory journal : official journal of the European Society for Clinical Respiratory  
525 Physiology **1997**; 10:1467-75.

526 31. Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. Current opinion in allergy  
527 and clinical immunology **2009**; 9:29-37.

528 32. Zacharasiewicz A, Auer H, Brath H, et al. [Toxocara and bronchial hyperreactivity--  
529 results of a seroprevalence study]. Wiener klinische Wochenschrift **2000**; 112:922-6.

530 33. Pearce EJ, MacDonald AS. The immunobiology of schistosomiasis. Nat Rev Immunol  
531 **2002**; 2:499-511.

532 34. Cooper PJ, Barreto ML, Rodrigues LC. Human allergy and geohelminth infections: a re-  
533 view of the literature and a proposed conceptual model to guide the investigation of possible  
534 causal associations. British medical bulletin **2006**; 79-80:203-18.

535 35. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, et al. Exposure to foodborne and orofecal mi-  
536 crobes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study.  
537 BMJ **2000**; 320:412-7.

538 36. Linneberg A, Ostergaard C, Tvede M, et al. IgG antibodies against microorganisms and  
539 atopic disease in Danish adults: the Copenhagen Allergy Study. The Journal of allergy and  
540 clinical immunology **2003**; 111:847-53.

541 37. Janson C, Asbjornsdottir H, Birgisdottir A, et al. The effect of infectious burden on the  
542 prevalence of atopy and respiratory allergies in Iceland, Estonia, and Sweden. The Journal of  
543 allergy and clinical immunology **2007**; 120:673-9.

544 38. Yazdanbakhsh M, van den Biggelaar A, Maizels RM. Th2 responses without atopy: im-  
545 munoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. Trends in immu-  
546 nology **2001**; 22:372-7.

- 547 39. Turner JD, Jackson JA, Faulkner H, et al. Intensity of intestinal infection with multiple  
548 worm species is related to regulatory cytokine output and immune hyporesponsiveness. The  
549 Journal of infectious diseases **2008**; 197:1204-12.
- 550 40. Lynch NR, Hagel I, Perez M, Di Prisco MC, Lopez R, Alvarez N. Effect of anthelmintic  
551 treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. The Journal of allergy and  
552 clinical immunology **1993**; 92:404-11.
- 553 41. Mitre E, Norwood S, Nutman TB. Saturation of immunoglobulin E (IgE) binding sites by  
554 polyclonal IgE does not explain the protective effect of helminth infections against atopy.  
555 Infection and immunity **2005**; 73:4106-11.
- 556 42. Wilson MS, Maizels RM. Regulation of allergy and autoimmunity in helminth infection.  
557 Clinical reviews in allergy & immunology **2004**; 26:35-50.
- 558 43. Correale J, Farez MF. The impact of environmental infections (parasites) on MS activity.  
559 Mult Scler **2011**; 17:1162-9.
- 560 44. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach JF. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and aller-  
561 gic diseases: an update. Clinical and experimental immunology **2010**; 160:1-9.
- 562 45. Figueiredo CA, Alcantara-Neves NM, Veiga R, et al. Spontaneous cytokine production in  
563 children according to biological characteristics and environmental exposures. Environmental  
564 health perspectives **2009**; 117:845-9.
- 565 46. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. BMJ **1989**; 299:1259-60.
- 566 47. Hagel I, Cabrera M, Hurtado MA, et al. Infection by *Ascaris lumbricoides* and bronchial  
567 hyper reactivity: an outstanding association in Venezuelan school children from endemic are-  
568 as. Acta tropica **2007**; 103:231-41.
- 569 48. Cunha SSd, Barreto ML, Fiaccone RL, et al. Asthma cases in childhood attributed to ato-  
570 py in tropical area in Brazil. Revista Panamericana de Salud Pública **2010**; 28:405-11.

571 49. Liberato JR, Barreto RW, Niinomi S, Takamatsu S. *Queirozia turbinata* (Phyllactinieae,  
572 Erysiphaceae): a powdery mildew with a dematiaceous anamorph. *Mycological research*  
573 **2006**; 110:567-74.

574

575

576

577

578

579

580

581

582

583

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

**Table 1: Associations between burden of helminth infections and eosinophilia or total IgE in 1,155 children**

Number of helminth infections (n=1,155)	Eosinophilia > 4%		Eosinophilia > 10%		Total IgE	
	n (%)	#OR (CI 95%)	n (%)	#OR (CI 95%)	n (%)	#OR (CI 95%)
0 (n=533; 46.2%)	343 (64.6)	1	83 (15.6)	1	282 (52.9)	1
1 (n=422; 36.6%)	336 (79.6)	<b>2.13</b> <b>(1.57; 2.90)</b>	110 (26.1)	<b>1.81</b> <b>(1.31; 2.52)</b>	268 (63.5)	<b>1.53</b> <b>(1.17; 1.99)</b>
2 (n=139; 12.0%)	121 (87.1)	<b>3.36</b> <b>(1.96; 5.77)</b>	62 (44.6)	<b>3.82</b> <b>(2.51; 5.83)</b>	96 (69.1)	<b>1.92</b> <b>(1.28; 2.88)</b>
3 (n=61; 5.3%)	58 (95.1)	<b>8.85</b> <b>(2.70; 28.99)</b>	39 (63.9)	<b>7.96</b> <b>(4.42; 14.35)</b>	44 (72.1)	<b>2.22</b> <b>(1.22; 4.02)</b>

599 # Adjusted for gender, age, maternal education and parental asthma. Numbers in bold are statistically significant at P<0.05.

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

**Table 2: Associations between burden of helminth infections and specific IgE or skin prick test (SPT) positivity for at least one allergen in 1,271 children.**

Number of helminth infections (n=1,271)	#sIgE ≥0.70		#SPT	
	n (%)	*OR (CI 95%)	n (%)	*OR (CI 95%)
0 (n=580; 45.6%)	212 (36.6)	1	202 (34.8)	1
1 (n=463; 36.4%)	175 (37.8)	1.09 (0.84; 1.41)	128(27.7)	<b>0.71</b> <b>(0.54; 0.94)</b>
2 (n=162; 12.8%)	64 (39.6)	1.15 (0.79; 1.67)	40(24.7)	<b>0.60</b> <b>(0.40; 0.91)</b>
3 (n=66; 5.2%)	21 (31.8)	0.79 (0.45; 1.38)	11(16.7)	<b>0.36</b> <b>(0.18; 0.71)</b>

611 # For at least one the four studied allergens; \*Adjusted for gender, age, mother education and parental. Numbers in bold are statistically significant at P<0.05.

612  
613  
614  
615  
616  
617  
618  
619  
620  
621  
622  
623  
624  
625  
626  
627

**Table 3: Associations between burden of helminth infections and asthma or asthma phenotypes in 1,271 children.**

Number of helminth infections (n=1,271)	All asthma		Non-atopic asthma		Atopic asthma		
	n (%)	*OR (CI 95%)	n (%)	**Non-atopic/non-asthmatic	n (%)	**Non-atopic/non-asthmatic	**Atopic/non-asthmatic
0 (n=580; 45.6%)	164 (28.3)	1	59 (10.2)	1	60 (10.3)	1	1
1 (n=463; 36.4%)	133 (28.7)	1.02 (0.78; 1.34)	60 (13.0)	1.40 (0.92; 2.11)	51 (11.0)	1.24 (0.81; 1.90)	1.01 (0.69; 1.74)
2 (n=162; 12.8%)	52 (32.1)	1.20 (0.82; 1.75)	21 (13.0)	1.33 (0.74; 2.38)	19 (11.7)	1.23 (0.68; 2.23)	1.01 (0.53; 1.92)
3 (n=66; 5.2%)	25 (37.9)	1.55 (0.91; 2.63)	12 (18.2)	1.84 (0.87; 3.89)	6 (9.1)	0.91 (0.36; 2.34)	1.02 (0.37; 2.84)

629

630 \*Adjusted for gender, age, maternal education and parental asthma; \*\* Reference groups for polytomous logistic regression analysis

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

**Table 4. Associations between burden of helminth infection and cytokine production by peripheral blood leukocytes (PBLs) stimulated with *A. lumbricoides* antigen**

Number of helminth infections	<i>A. lumbricoides</i> -induced cytokine production					
	n (%)	% Non responders (n)	% Responders (n)	Crude OR (IC)	#Adjusted OR (IC)	*P-value
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>						
		(n=904)	(n=23)			
0	416 (44.9)	97.1	2.9	1	1	0.883
1	342 (36.9)	98.0	2.0	0.70(0.27; 1.81)	0.71(0.27; 1.87)	
2	114 (12.3)	97.4	2.6	0.91(0.25; 3.28)	0.90(0.24; 3.38)	
3	55 (5.9)	98.2	1.8	0.62(0.08; 4.89)	0.64(0.08; 5.23)	
<b>IL-5</b>						
		(n=1.013)	(n=139)			
0	530 (46,0)	91.3	8.7	1	1	<b>0.000</b>
1	422 (36,6)	87.7	12.3	1.47 (0.97; 2.25)	1.45 (0.94; 2.23)	
2	140 (12,2)	82.9	17.1	<b>2.17 (1.28; 3.71)</b>	<b>1.89 (1.09; 3.28)</b>	
3	60 (5,2)	71.7	28.3	<b>4.16 (2.20; 7.87)</b>	<b>3.54 (1.82; 6.86)</b>	
<b>IL-10</b>						
		(n=1.205)	(n=51)			
0	568 (45.2)	97.4	2.6	1	1	0.114
1	461 (36.7)	95.1	4.9	<b>1.93 (1.00; 3.75)</b>	1.87 (0.95; 3.66)	
2	160 (12.8)	93.8	6.2	<b>2.46 (1.08; 5.58)</b>	2.23 (0.96; 5.18)	
3	67 (5.3)	95.5	4.5	1.73 (0.49; 6.13)	1.43 (0.39; 5.23)	
<b>IL-13</b>						
		(n=955)	(n=236)			
0	542 (45.5)	81.6	18.4	1	1	0.076
1	438 (36.8)	79.2	20.8	1.16 (0.84; 1.59)	1.18 (0.85; 1.63)	
2	147 (12.3)	83.0	17.0	0.91 (0.56; 1.47)	0.90 (0.55; 1.48)	
3	64 (5.4)	68.8	31.2	<b>2.01 (1.13; 3.56)</b>	<b>1.99 (1.10; 3.58)</b>	



645 \*Chi<sup>2</sup> test ( $\chi^2$ ); # adjusted for gender, age, maternal education and parental asthma. Numbers in bold are statistically significant at P<0.05

646

647

648

649

650

651

652

653

654

655

656

657

658

659

660

661

662

663

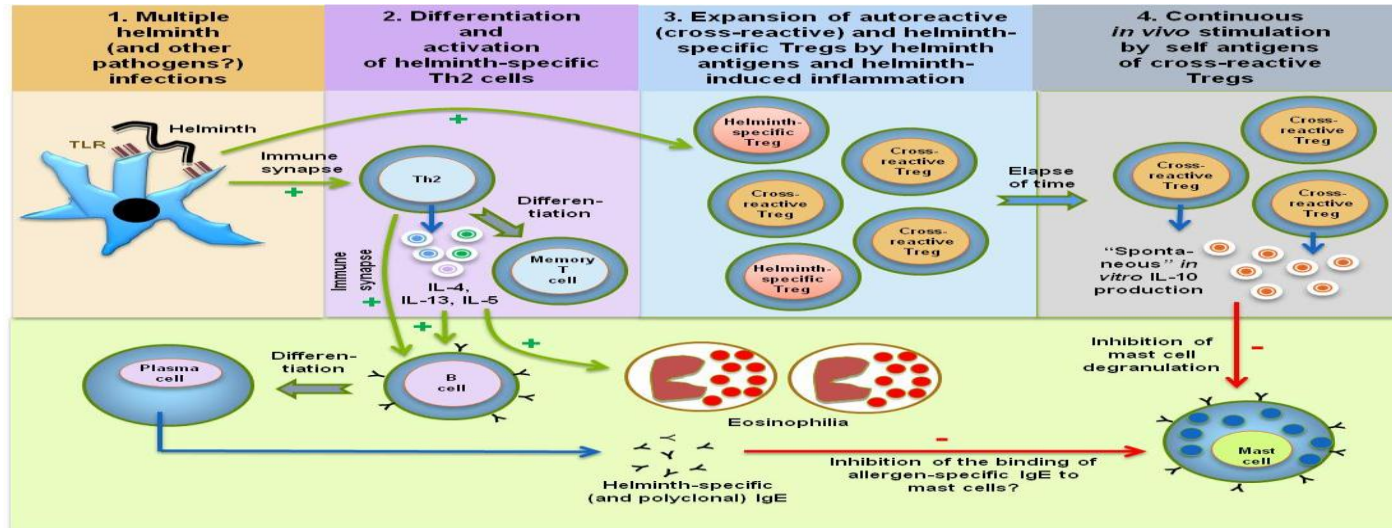
**Table 5. Association between burden of helminth infection with cytokine production by peripheral blood leukocytes cultured in medium alone (i.e. spontaneous cytokine production)**

Number of helminth infections	Spontaneous cytokine production					*P-value
	n (%)	% Non responders (n)	% Responders (n)	Crude OR (IC)	Adjusted #OR (IC)	
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>						
		(n=870)	(n=114)			
0	450 (445.7)	89.8	10.2	1	1	0.606
1	361 (36.7)	87.8	12.2	1.22(0.79; 1.89)	1.17(0.74; 1.84)	
2	117 (11.9)	86.3	13.7	1.39(0.76; 2.56)	1.35(0.72; 2.53)	
3	56 (5.7)	85.7	14.3	1.46(0.65; 3.28)	1.36(0.59; 3.11)	
<b>IL-5</b>						
		(n=1.150)	(n=66)			
0	569 (46.8)	95.1	4.9	1	1	0.342
1	443 (36.4)	94.1	5.9	1.20(0.70; 2.09)	1.18(0.67; 2.07)	
2	144 (11.8)	95.8	4.2	0.84(0.34; 2.07)	0.86(0.34; 2.15)	
3	60 (5.0)	90.0	10.0	2.15(0.85; 5.41)	2.18(0.84; 5.67)	
<b>IL-10</b>						
		(n=1.213)	(n=110)			
0	610 (46.1)	95.1	4.9	1	1	<b>0.000</b>
1	482 (36.4)	90.7	9.3	<b>1.99(1.23; 3.21)</b>	<b>1.99(1.22; 3.24)</b>	
2	164 (12.4)	88.4	11.6	<b>2.53(1.39; 4.63)</b>	<b>2.45(1.32; 4.55)</b>	
3	67 (5.1)	76.1	23.9	<b>6.07(3.10; 11.86)</b>	<b>5.97(2.97; 12.01)</b>	
<b>IL-13</b>						
		(n=826)	(n=432)			
0	542 (45.5)	65.4	34.6	1	1	0.948
1	458 (36.4)	66.6	33.4	0.95(0.73; 1.23)	0.96(0.73; 1.24)	
2	152 (12.1)	64.5	35.5	1.04(0.72; 1.51)	1.07(0.73; 1.57)	
3	64 (5.0)	64.1	35.9	1.06(0.62; 1.82)	1.10(0.63; 1.91)	

664 \*Chi<sup>2</sup> test ( $\chi^2$ ); #Crude OR; ## OR adjusted for gender, age, maternal education and parental asthma. Numbers in bold are statistically significant at P<0.05



Figure



**Figure.** A hypothesis to explain the pattern of cytokine production observed in cultures of peripheral blood leukocytes from individuals who had been infected with multiple helminths: (i) an spontaneous production of IL-10 in the absence of exogenous antigen (i.e. in unstimulated cultures); and [49] the presence of a Th2 recall response, but not an IL-10 recall response, to *A. lumbricoides* antigens. (1) Multiple helminth infections could lead to stimulation of the immune system by hundreds of different antigens, including antigens that are cross-reactive with self antigens. (2) Strong helminth-specific and nonspecific polyclonal Th2 immune responses, with the differentiation and expansion of memory cells, would result from such infections. The Th2 immune response could lead to helminth-specific and non-specific polyclonal IgE production, to eosinophil expansion and activation, and to inflammation. The high levels of polyclonal IgE could theoretically inhibit mast cell activation, by competition with allergen-specific IgE for FcεR2 receptors on mast cells, causing inhibition of immediate hypersensitivity skin test to allergens). (3) A consequent differentiation and expansion of helminth-specific Tregs, some of them cross-reactive with self antigens (and some perhaps only autoantigen-reactive, as a consequence of tissue damage by inflammation) could occur (for the sake of clarity, only cross-reactive and helminth-specific Tregs are shown). (4) The cross-reactive/self antigen-specific Tregs would be maintained in a steady state of activation by self antigens, and would release low levels of regulatory cytokines, including IL-10. The spontaneous production of elevated levels of IL-10 could suppress mast-cell degranulation. Because these Tregs could be maintained through continuous stimulation to self antigens *in vivo*, they would not be further stimulated by helminth antigens *in vitro*. TLR = toll-like receptor

## 4 CONCLUSÃO

Os dados dispostos no referido trabalho, demonstram fortes associações entre infecções por helmintos, eosinofilia e IgE total, além de uma associação inversa entre infecções por helmintos e SPT, em crianças infectadas por helmintos, demonstrando um efeito de dose-resposta relacionando esses marcadores alérgicos/inflamatórios a infecções por helmintos.

Também foi demonstrado que a infecção por helmintos, em especial quando em coinfeções, está associada a uma resposta imune Th2 típica. Entretanto, tais infecções estão associadas com uma paralela regulação exercida pelo aumento da produção de IL-10, que possivelmente desempenha um papel na supressão de reações de hipersensibilidade imediata na pele.

A ausência de associação entre infecções por helmintos e sibilância foi atribuída ao fato de que o sibilos se apresenta, na população de estudo, predominantemente na natureza não atópica. Outros trabalhos publicados utilizando a mesma população indicam, inclusive, que em apenas 25% dos indivíduos sibilantes atópicos, o sibilos se deve realmente a atopia.

Estudos posteriores se fazem necessários, para elucidar os mecanismos moleculares dessa modulação imunológica, no intuito de testar a presente hipótese sugerida, de que infecções por helmintos na infância podem induzir a uma reação cruzada nas populações de células imunes reguladoras que são mantidas por antígenos próprios e servem para atenuar a resposta inflamatória a estímulos endógenos e exógenos.

## **5 APOIO FINANCEIRO**

Wellcome Trust, UK, através do programa SCAALA (Social Change, Asthma and Allergy in Latin America), Ref 072405/Z/03/Z;

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);

Programa de Pós Graduação em Imunologia da Universidade Federal da Bahia (PPGI-UFBA).