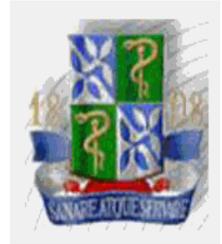




UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE



CITOLOGIA DO ESCARRO INDUZIDO EM ASMÁTICOS
INFECTADOS PELO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Givaneide dos Santos Lima

Dissertação de Mestrado

Salvador (Bahia), 2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE



CITOLOGIA DO ESCARRO INDUZIDO EM ASMÁTICOS
INFECTADOS PELO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Givaneide dos Santos Lima

Professora Orientadora: Maria Ilma Andrade
Santos Araujo

Dissertação apresentada ao Colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, como pré-requisito obrigatório para a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Salvador (Bahia), 2011

FICHA CATALOGRÁFICA

L732 Lima, Givaneide dos Santos,
Citologia do escarro induzido em asmáticos infectados pelo
Schistosoma Mansoni./Givaneide dos Santos Lima.- Salvador: [s.n.],
2011.
x, 90f. : il.

Orientador: Prof.^a Dr^aMaria Ilma Andrade Santos Araújo.

Dissertação (Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) Faculdade de Medicina. Universidade Federal da Bahia.

1.Escarro. 2. Asma. 3. Eosinófilos. 4. Eosinofilia. 5. Esquistossomose.
I.Universidade Federal da Bahia. II. Título.

CDU: 616.24-008.8
616.248
616.993.122

COMISSÃO EXAMINADORAMembros Titulares:

. **Régis de Albuquerque Campos, (Presidente)** Professor Adjunto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia; Professor Colaborador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFBA Pesquisadora do Serviço de Imunologia; Pós-Doutor pela Universidade de Yale, EUA.

. **Álvaro Augusto Souza da Cruz Filho**, Professor Associado da Faculdade de Medicina da Bahia, UFBA.

. **Adelmir Souza-Machado**, Professor Adjunto do Instituto de Ciências da Saúde - UFBA; Professor do Corpo Permanente do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Saúde-UFBA; Coordenador do ProAR – UFBA. Pós Doutor pela UFBA.

Membros Suplentes:

. **Silvane Braga**, Pesquisadora do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA; Professora da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.

. **Maria Olívia Bacellar**, Pesquisadora do Serviço de Imunologia; Professor Colaborador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFBA.

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver” (Dalai Lama)

*A meus pais, pelo exemplo de vida, força,
coragem, lealdade e perseverança, razão da
minha vida e existência.*

EQUIPE

NOME	FUNÇÃO NO PROJETO
Maria Ilma Andrade Santos Araújo	Coordenadora do projeto.
Givaneide dos Santos Lima	Aluna de mestrado responsável pelo desenvolvimento deste projeto.
Maria Cecília Almeida	Aluna de Doutorado responsável pela avaliação clínica dos indivíduos.
Robson da Paixão de Souza	Mestre que participou do inquérito parasitológico na área endêmica.
Leda Maria Alcântara	Professora responsável pelo inquérito parasitológico na área endêmica.
Joanemile Pachêco	Doutoranda e colaboradora nas atividades de área endêmica
Ricardo Riccio Oliveira	Doutor e colaborador nas atividades de área endêmica.
Luciana Cardoso	Doutora e colaboradora nas atividades de área endêmica.
Irisma Santos S. Souza	Médica responsável pela realização dos radiografias do tórax
Antoniél Barros	Responsável pelas análises estatísticas.
Edgar Marcelino Carvalho	Responsável pela revisão do protocolo, da análise dos dados e do material a ser publicado.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES

UFBA - Universidade Federal da Bahia

Fonte de Financiamento

1. Bolsa de Estudos do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).
2. Serviço de Imunologia (SIM) do Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. **Álvaro Augusto de Souza da Cruz Filho**, pela atenção, confiança, incentivo e dedicação. Por fazer parte do meu desenvolvimento profissional e acadêmico. Por sua prestimosa amizade fraterna e pelo seu exemplo de pesquisador e ser humano.

A minha mestra Prof^a. Dr^a. **Maria Ilma Araújo** pela confiança e orientação. Pelo exemplo de pessoa e pesquisadora que levarei comigo por toda minha vida.

Ao Dr. **Edgar Marcelino Carvalho** pela acolhida no Serviço de Imunologia, permitindo o desenvolvimento deste trabalho.

A minha amiga e mestra **Maria Cecília de Almeida**, pelo companheirismo, amizade, ajuda e incentivo. Pelos nossos momentos juntas que não serão esquecidos jamais, pela sua poesia e escritos que nos ajudou a suportar 15 dias em Gandu com saudades de casa e por sua doçura. Sem sua ajuda não tinha sido possível!

A minha mãe **Maria do Carmo Lima** e meu pai **José Correia Lima** pelas orações e amor incondicional.

Aos meus amigos do Serviço de Imunologia, **Joanemile Pacheco, Robson Souza, Aline Báfica, Luciana Cardoso, Ricardo Oliveira, Elbi Martes, Luca Reis**, a prof^a **Lêda Alcântara** e **Aristides Araujo** pelo inestimável colaboração.

Aos meus colegas de turma, principalmente **José Carlison Oliveira**, por sua alegria e brincadeiras nas horas mais inusitadas fazendo a vida e o mestrado parecerem bem mais leves. A **Paula Almeida** pela sua amizade, paciência e doçura. A **Ana Cibele Barbosa** pela atenção dedicação e apoio.

Aos pacientes, peça fundamental para que este trabalho se realizasse.

Aos meus familiares, principalmente a **Tiago Marques** por compreender minha ausência durante todo este estudo. A minha irmã **Clautercleides Lima** pela confiança e ajuda na formatação do trabalho.

A todos os **professores** envolvidos no curso de pós-graduação pela valiosa contribuição na minha formação durante o curso.

A Deus pela energia que envolve o meu ser todos os dias e o dom da vida.

SUMÁRIO

Índice de figuras, gráficos e tabelas	13
I. RESUMO	15
II. OBJETIVOS	17
III. INTRODUÇÃO	18
IV. REVISÃO DA LITERATURA	19
IV.1 Imunopatogênese da asma	19
IV.2 Doenças alérgicas e infecções helmínticas	23
IV.3 Associação entre atopia/alergia e helmintíases	25
IV.4 Ativação celular na asma e na infecção pelo <i>S. mansoni</i>	29
IV.5 Regulação da resposta imune na asma e infecção pelo <i>S. mansoni</i>	31
V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS	37
V.1 Local do estudo	37
V.2 Desenho do estudo	38
V.3 Critérios de inclusão e exclusão	42
V.3.1 Critérios de inclusão	42
V.3.2 Critérios de exclusão.	42
V.4 Cálculos do tamanho amostra	43
V.5 Avaliação da gravidade da asma	44
V.6 Avaliação complementar nos indivíduos do estudo	44
V.6.1 Testes alérgicos	44
V.6.2 Provas de função pulmonar	45
V.6.3 Radiografia do tórax	45
V.6.4 Exame parasitológico de fezes	45
V.7 Indução e coleta do escarro	46
V.7.1 Avaliação do escarro induzido	46
VI. ANÁLISE ESTATÍSTICAS	47
VII. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	48
VIII. RESULTADOS	49
VIII.1 Características demográficas dos indivíduos participantes do estudo	49
VIII.2 Características demográficas e carga parasitária de <i>S. mansoni</i> dos indivíduos asmáticos infectados	49
VIII.3 Testes alérgicos	51

VIII.4 Avaliação do escore de gravidade de asma nos pacientes da área endêmica em esquistossomose	51
VIII.5 Escore de gravidade de asma e eosinófilia no escarro induzido	52
VIII.6 Celularidade do escarro induzido	53
VIII.7 Espirometria nos pacientes asmáticos infectados pelo S.mansoni	60
VIII.8 Radiografia do Tórax	61
VIII.9 Discussão	61
IX. CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXOS	79

ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS E TABELAS

FIGURA

FIGURA 1 - Esquema descrevendo a imunopatogenia da asma.	20
FIGURA 2 - Microfotografia de células inflamatórias do escarro induzindo.	21
FIGURA 3 - Caramujo do gênero <i>Biomphalaria</i> .	23
FIGURA 4 - Verme adulto do <i>S.mansoni</i> .	24
FIGURA 5 - Localização do município de Gandu - Bahia.	36
FIGURA 6 - Escore de gravidade da asma.	43

GRÁFICO

GRÁFICO 1 - Perfil dos escores de gravidade da asma nos dois grupos de pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> , Gandu-Ba.	51
GRÁFICO 2 - Comparação dos perfis dos escores da gravidade de asma nos período basal e com 90 dias em relação à eosinofilia no escarro induzido nos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	51
GRÁFICO 3 - Frequência de eosinófilos no escarro induzido nos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	53
GRÁFICO 4 - Frequência de neutrófilos no escarro induzido em pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	54
GRÁFICO 5 - Frequência de macrófagos no escarro induzido pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	54
GRÁFICO 6 - Frequência de células mononucleares no escarro induzido pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	55
GRÁFICO 7 - Número total de células no escarro induzido dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	57
GRÁFICO 8 - Frequência de eosinófilos (mm^3) dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	58
GRÁFICO 9 - Frequência de pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> com $\text{VEF1} \geq 80\%$.	59

TABELAS

TABELA 1 -	Características demográficas dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> e dos pacientes asmáticos não infectados.	48
TABELA 2 -	Caracterização demográfica e carga parasitária dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> , residentes em Água Preta Gandu-Ba	49
TABELA 3 -	Distribuição da positividade dos testes alérgicos dos participantes do estudo, asmáticos infectados e não infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	50
TABELA 4 -	Contagem diferencial de células do escarro induzido nos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	52
TABELA 5 -	Celularidade do escarro induzido dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> , em relação ao basal nos diferentes períodos avaliados.	56
TABELA 6 -	Número total de células (NTC) no escarro induzido dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	56
TABELA 7 -	Número de eosinófilos no escarro induzido nos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> .	58
TABELA 8 -	Celularidade do escarro induzido no período basal dos pacientes asmáticos infectados pelo <i>S.mansoni</i> e asmáticos não infectados.	59

I. RESUMO

CITOLOGIA DO ESCARRO INDUZIDO EM ASMÁTICOS INFECTADOS PELO *SCHISTOSOMA MANSONI*

Introdução: o estudo do escarro induzido tem ajudado no diagnóstico e no melhor entendimento da patologia da asma. **Objetivo:** avaliar a celularidade do escarro em asmáticos residentes em uma área endêmica em esquistossomose na Bahia. **Métodos:** estudo randomizado, duplo cego, controlado com placebo, incluindo asmáticos infectados pelo *S. mansoni* e um grupo controle de asmáticos não infectados, utilizado a celularidade do escarro induzido para avaliar os efeitos do tratamento da parasitose na asma. **Resultados:** Foram avaliados 22 pacientes infectados pelo *S. mansoni*, sendo 63,6% do sexo feminino. No grupo de asmáticos não infectados foram incluídos oito pacientes, sendo 50% feminino. O grupo que usou praziquantel não diferiu do que usou placebo quando comparada a celularidade, entretanto houve aumento no número de eosinófilos no grupo Placebo nos D7, D60 e D90 quando comparados ao basal, e no D60 no grupo Praziquantel. O número total de células aumentou em relação ao basal no D7 e no D90 para o grupo Placebo, e no D90 para o grupo Praziquantel. A espirometria mostrou que o grupo que fez uso do praziquantel apresentou uma maior redução do VEF1 nas avaliações do D7, D60 e D90. Não houve, entretanto, associação entre a eosinofilia e a gravidade da asma. **Conclusão:** O estudo do escarro se mostrou uma boa ferramenta para monitorar o comportamento celular em trabalhos de campo, entretanto, não foi encontrada uma boa correlação entre os tipos celulares encontrados e a gravidade da asma. Uma possível explicação seria o pequeno tamanho amostral do estudo ou ainda uma limitação da técnica, como sugerido por outros autores.

Palavras-chave: 1.Escarro; 2.Asma; 3.Eosinófilos; 4.Eosinofilia; 5.Esquistossomose

ABSTRACT

CYTOLOGY OF INDUCED SPUTUM IN ASTHMATICS INFECTED WITH *SCHISTOSOMA*

Introduction: the study of induced sputum has helped in the diagnosis and has contribute to a better understanding of asthma pathology. **Objective:** To evaluate the cellularity in sputum of asthmatic patients living in an endemic area of schistosomiasis in Bahia. **Methods:** This is a randomized, double blind, placebo-controlled study, including asthmatics infected with *S. mansoni* and a control group of non-infected asthmatics. It was used the cellularity of induced sputum to evaluate the effects of schistosomiasis treatment on asthma severity. **Results:** We studied 22 patients infected with *S. mansoni*, 63.6% of them were female. In the non-infected asthmatic group we included eight individuals, 50% female. The cellularity in the group that used praziquantel did not differ from those who used placebo, however higher number of eosinophils was found in the Placebo group on D7, D60 and D90 compared to baseline, and on D60 in Praziquantel group. The number of total cells increased from baseline at D7 and D90 for the Placebo group, and for the D90 for Praziquantel group. The spirometry showed that the Praziquantel group had a larger reduction in FEV1 in the evaluations of D7, D60 and D90. There was no association between eosinophilia and asthma severity, however. **Conclusion:** The study of the sputum in asthmatics showed to be a good tool to monitor cellularity in field work, however, there was not a good correlation between the cell types and severity of asthma. One possible explanation is the small sample size of the study or alternatively a technical limitation, as suggested by other authors.

Keywords: 1.Sputum; 2.Asthma, 3.Eosinophil, 4.Eosinophilia;
5.Schistosomiasis

II. OBJETIVOS

PRINCIPAL

Avaliar a celularidade do Escarro Induzido (EI) em asmáticos infectados pelo *Schistosoma mansoni* residentes na área endêmica de Água Preta, município de Gandu - Bahia.

SECUNDÁRIOS

1. Avaliar a celularidade do escarro induzido, em especial a eosinofilia, em asmáticos infectados pelo *S. mansoni* e correlacionar com a gravidade da asma;

2. Comparar a celularidade do escarro induzido em asmáticos infectados pelo *S. mansoni* antes e após o tratamento com anti-helmínticos;

3. Comparar a celularidade basal do escarro induzido em asmáticos infectados pelo *S. mansoni* com aqueles não infectados atendidos no Ambulatório de Alergia da UFBA com semelhante gravidade da asma.

HIPÓTESE

A citologia do escarro induzido reflete o processo inflamatório brônquico da asma, serve para comparar a gravidade da doença entre asmáticos infectados ou não pelo *S. mansoni*, e a gravidade antes e após o tratamento da parasitose nos asmáticos infectados.

III. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se buscado marcadores da atividade inflamatória em asmáticos empregando-se técnicas pouco invasivas, como a medida do óxido nítrico no ar exalado e a celularidade do escarro (Palomino et al., 2005). O escarro induzido (EI), foi inicialmente utilizado para o diagnóstico de câncer de pulmão e, posteriormente, para doenças infecciosas. Foi posteriormente re-estudado e aceito como um instrumento de investigação da patogenia da asma (Rufino et al., 2007), e também usado para acompanhar a evolução da inflamação das vias aéreas pelo processo de análise das células e proteínas (Bullens et al., 2008; SILVA, 2004).

Desde a última década, a identificação do padrão inflamatório da mucosa brônquica por meio do escarro induzido tem ajudado no diagnóstico e no melhor entendimento da asma. É um método não invasivo, acurado de baixo custo e seguro, inclusive em crianças (Bretscher, 1970; Palomino et al., 2005)

O escarro pode ser obtido espontaneamente ou por indução com inalação de solução salina hipertônica (SSH) a 4,5% (Drews et al., 2006).

Este estudo é pioneiro em avaliar celularidade do escarro induzido em pacientes asmáticos infectados pelo *Schistosoma mansoni* em área endêmica. Pesquisas realizadas pelo Serviço de Imunologia da Universidade Federal da Bahia (SIM) têm mostrado que há uma relação inversa entre a infecção pelo *S. mansoni* e a gravidade da asma (Medeiros et al., 2003).

A asma é histologicamente caracterizada por um infiltrado celular inflamatório das vias aéreas, representado pela presença de células inflamatórias como eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e mastócitos. O escarro é um biofluido complexo produzido nas vias aéreas inferiores e expectorado pela boca, sendo constituído de 90% a 95% de água, 2% a 4% de mucinas, que são

grandes glicoproteínas e 1% de exudatos transepiteliais, sais, lipídios, componentes inflamatórios e restos celulares (Tonietto et al., 2010).

IV. REVISÃO DA LITERATURA

Tem sido observado considerável aumento na incidência de doenças alérgicas em países industrializados nos últimos 30 anos e estima-se que ao menos 20% da população mundial é susceptível a essas doenças (Romagnani, 1997).

A asma é uma das mais freqüentes e graves das doenças alérgicas. A asma cursa com resposta inflamatória e hiperreatividade brônquica, envolvendo diversos tipos celulares, dos quais os mais importantes são as células T auxiliares do tipo 2 (Th2), mastócitos, basófilos e eosinófilos (Yssel et al., 2001).

No Brasil ocorrem aproximadamente 350.000 internações por asma, sendo a quarta causa de hospitalizações pelo Sistema Único de Saúde (2,3% do total) e a terceira causa entre crianças e adultos (Tisiologia, 2006).

IV.1 Imunopatogênese da asma

Embora a asma seja uma doença complexa e multifatorial, é bem conhecido o papel fundamental das células Th2 na imunopatogenia da mesma (Wills-Karp, 1999). Estas células secretam interleucina (IL)-4 e IL-13 que induzem e mantêm a produção de imunoglobulina (IgE) por células B, e IL-5 que induz o recrutamento, diferenciação e infiltração de eosinófilos na mucosa brônquica (Foster et al., 1996).

Além das ações acima referidas, a IL-4, que é também produzida por mastócitos ativados, é um fator de diferenciação para células Th2, perpetuando

o processo inflamatório (Yssel et al., 2001). Além das células TCD4⁺ do tipo Th2, subpopulações de células Th1 ativadas que produzem interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) contribuem para a reação inflamatória associada ao dano tecidual na asma (Abbas et al., 1996).

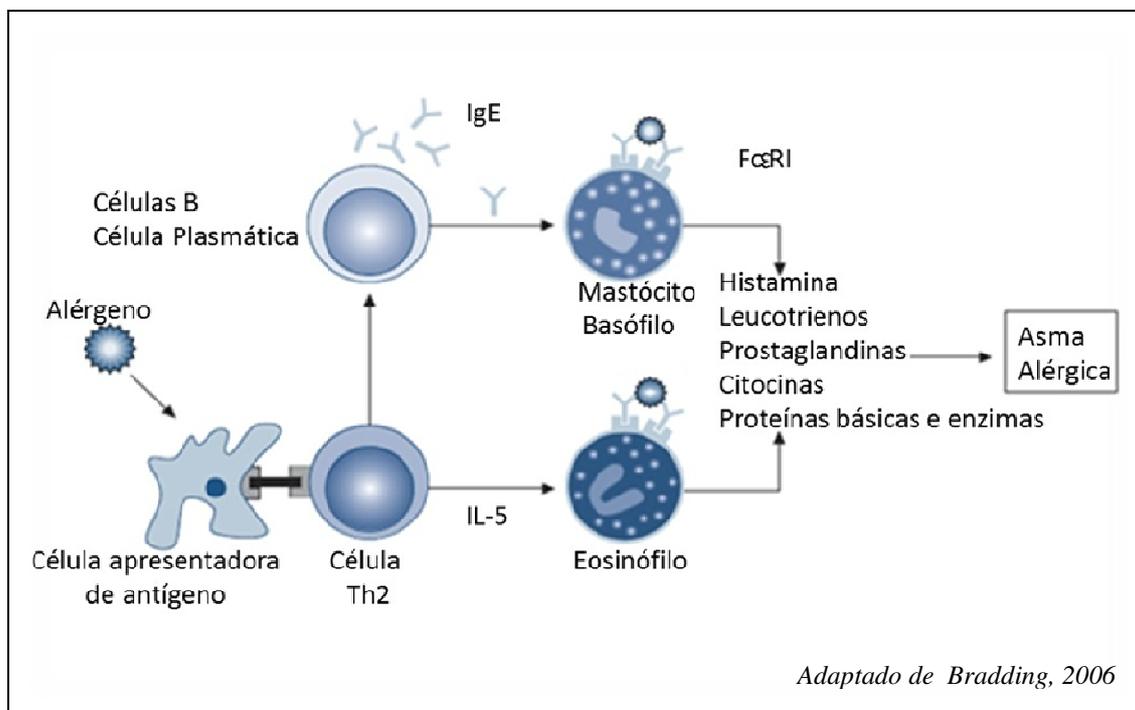


Figura 1. Esquema descrevendo a imunopatogênese da asma.

Os eosinófilos são granulócitos derivados das células CD34⁺ da medula óssea e existem em abundância nos infiltrados inflamatórios que caracterizam os processos patológicos das doenças alérgicas. Seu fator principal de crescimento é a IL-3, seus grânulos contêm histamina, sulfato de condroitina e proteases que são proteínas básicas que se ligam a corantes ácidos como eosina. A IL-5 é uma citocina ativadora de eosinófilos, reforça a habilidade dos eosinófilos em liberar o conteúdo granular quando ocorre ligação cruzada dos receptores de IgE e Fc ϵ RI com esta imunoglobulina (Figura 1) (Abbas, 2005; Bradding et al., 2006).

Para cada eosinófilo na circulação existem mais ou menos 100 a 300 eosinófilos nos vários tecidos, inclusive brônquico (Solé et al., 2006). A figura 2 mostra eosinófilos em lâmina de escarro induzido. Estima-se que mais do que 80% dos asmáticos sem uso prévio de corticosteróides e mais de 50%

dos que fazem corticoterapia inalatória possam ter níveis de eosinófilos no escarro acima do normal (Pavord et al., 2002), que é considerado até 2,5% (Palomino et al., 2005).

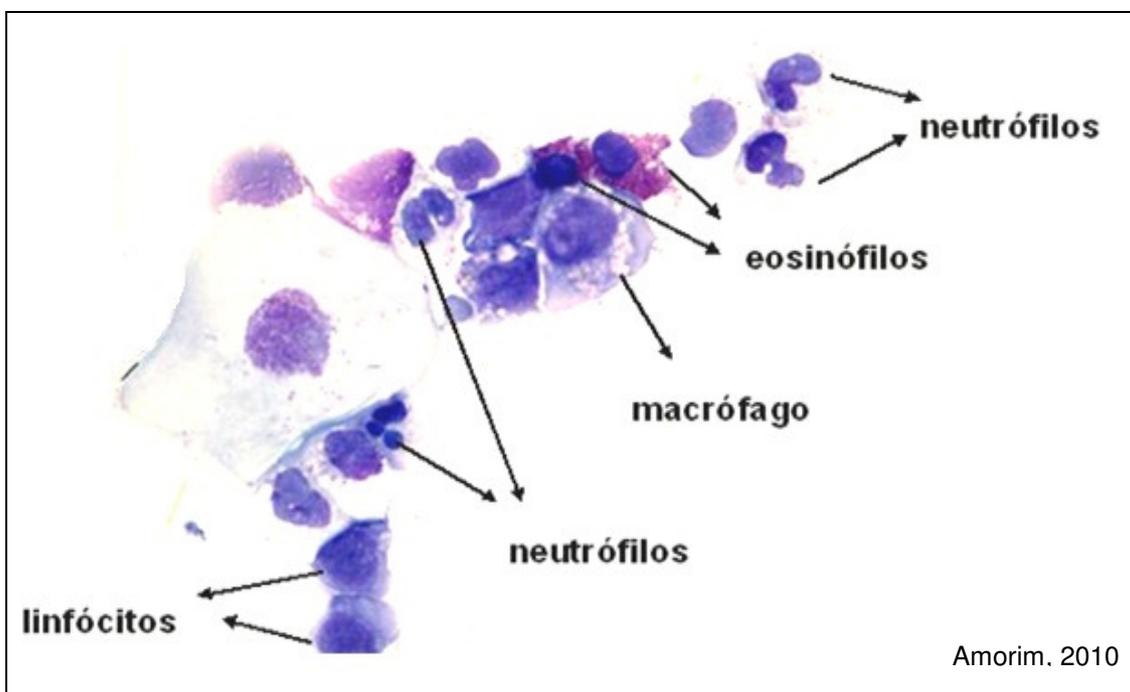


Figura 2. Microfotografia de células inflamatórias do escarro induzindo.

Os mastócitos derivam também de células progenitoras $CD34^+$ situadas na medula óssea. Estas células normalmente não são encontradas na circulação. Os progenitores migram para os tecidos periféricos como células imaturas e sofre a diferenciação *in situ*.

Mastócitos maduros são encontrados em todo o corpo, próximo aos vasos sanguíneos, aos nervos, sob o epitélio e nos órgãos linfóides, eles variam em forma e possuem núcleos redondos, com grânulos contendo histamina e proteoglicanas ácidas que ligam corantes básicos, heparina e/ou sulfato de condroitina e proteases, ligados por membranas e corpos lipídicos no citoplasma.

A ativação dos mastócitos ocorre pela ligação cruzada de moléculas de $Fc\epsilon R1$, que se ligam com antígenos multivalentes às moléculas de IgE anexas, e resulta de três tipos de resposta biológicas: secreção do conteúdo

pré-formadores de grânulos por um processo regulado de excitose, síntese e secreção de citocinas. Os basófilos são granulócitos sanguíneos com similaridade estruturais e funcionais às dos mastócitos. Os mastócitos e basófilos produzem diferentes citocinas e quimiocinas que podem contribuir para a inflamação alérgica a exemplo de: IL-1, IL-4 IL-5, IL-6, e IL-13, além de TNF, MIP-1alfa e MIP-1 beta.

Os neutrófilos (leucócito polimorfo nuclear ou PMN) são células fagocíticas caracterizadas por apresentarem um núcleo lobular segmentado e grânulos citoplasmáticos preenchidos com enzimas de degradação (lisozima, collagenase e elatase). Seus grânulos não se coram fortemente nem com corante básico nem com corante ácido, o que distingue dos grânulos de eosinófilos, mastócitos e basófilos. São produzidos na medula óssea e originam-se de uma linhagem em comum com os fagócitos mononucleares. A produção de neutrófilos é estimulada pelo fator estimulador de colônias de granulócitos (GCF). Eles migram para o local de infecção dentro de poucas horas após a entrada de microrganismos. Os PMNs constituem o tipo mais abundante de leucócitos em circulação e são células mediadoras de respostas inflamatórias agudas nas infecções bacterianas.

Os monócitos são os primeiros tipos celulares que entram no sangue periférico depois de deixar a medula óssea totalmente diferenciado. Uma vez estabelecidos nos tecidos, essas células amadurecem e se tornam macrófagos. Eles podem exibir formas diferentes após serem ativados por estímulos externos. Os macrófagos estão em todos os órgãos e no tecido conjuntivo e recebem nomes especiais para designar a localização específica. No sistema nervoso central são chamados de microglia; na superfície do endotélio dos sistemas sinusóides hepáticos são chamados de células de Kupffer e nas vias aéreas macrófagos alveolares (Abbas, 2005).

IV.2 Doenças alérgicas e infecções helmínticas

As infecções parasitárias por geohelminthos são altamente prevalentes e afetam particularmente as populações pobres que vivem nas regiões subdesenvolvidas ou em desenvolvimento (Cooper, 2007). A prevalência mundial da esquistossomose por exemplo é alta, com cerca de 200 milhões de pessoas infectadas (Hotez, 2006). A infecção ocorre quando o homem entra em contacto com a água que abriga o caramujo hospedeiro intermediário do *S. mansoni*, o caramujo do gênero *Biomphalaria* (representado na figura 3). A figura 4 representa o verme adulto do *S. mansoni*.



Figura 3, caramujo do gênero *Biomphalaria* (fonte) Pesquisado em: 28/01/2011 http://www2.uol.com.br/sciam/reportagens/genoma_contra_a_esquistossomose.html.

Os antígenos dos helmintos são potentes indutores da resposta imune mediada pelas células TCD4+ do tipo 2 ou t “helper”2 (th2), caracterizada pela produção de citocinas que induzem várias vias efetoras incluindo aquelas mediadas por IgE. Este tipo de resposta imune que ocorre na reação às infecções helmínticas também é observada nas doenças alérgicas a exemplo da asma, da rinite e do eczema atópico.



Figura 4. Verme adulto do *S.mansoni*. Pesquisado em: 28/01/2011. (fonte) <http://animal.discovery.com/invertebrates/monsters-insideme/schistosomiasis/schistosoma-mansoni/>.

Na resposta imune Th2, os antígenos de helmintos ou alérgenos estimulam os linfócitos T a produzirem citocinas Th2, como a interleucina-4 (IL-4), a IL-13 e a IL-5. A IL-4 e IL-13 induzem os linfócitos B a produzirem imunoglobulina E (IgE) e a IL-5 atrai e ativa os eosinófilos. A eosinofilia e o aumento das concentrações séricas de IgE são, portanto, características da resposta imune Th2. Uma parte da IgE produzida durante a resposta imune Th2 é antígeno-específica. A IgE específica liga-se a receptores de alta afinidade na superfície de mastócitos e basófilos, e nas exposições subseqüentes ao alérgeno ocorre liberação dos mediadores inflamatórios destas células, a exemplo da histamina, prostaglandinas, leucotrienos e também citocinas e quimiocinas do padrão Th2 (IL-4, IL-13, e RANTES), como revisado por Ponte e colaboradores (Ponte et al., 2007).

IV.3 Associação entre atopia/alergia e helmintíases

As infecções por helmintos e as alergias são condições altamente prevalentes em vários países do mundo. Muitos estudos têm avaliado a associação entre estas duas condições patológicas, uma vez que a prevalência de doenças atópicas vem aumentando nos países industrializados, onde uma progressiva melhora das condições sanitárias levou à redução de parasitoses intestinais e de outras doenças da infância (Asher, 1998). Paradoxalmente, tem sido observado que as doenças alérgicas são menos freqüentes em países onde a prevalência de helmintíases é elevada (Asher, 1998). Além disso, Yemaneberhan e colaboradores observaram que, dentro de um mesmo país, existe uma maior prevalência de alergias nos centros urbanos, quando comparados com zonas rurais (Von Ehrenstein et al., 2000; Yemaneberhan et al., 1997).

Baseado nestas informações e no fato de indivíduos de países industrializados estarem menos susceptíveis a infecções devido a vacinações, uso de antibióticos e melhores condições sanitárias, foi criada a “Hipótese da Higiene” (Strachan, 1989). Segundo esta hipótese, as crianças ao nascerem apresentam um padrão de resposta do tipo Th2 que vai sendo modificado pela exposição a agentes indutores da resposta do tipo Th1 encontrados no ambiente. Os indivíduos de países industrializados apresentam uma expansão da resposta Th2 e, conseqüentemente uma predisposição para doenças alérgicas, por possuírem uma estimulação insatisfatória da resposta do tipo Th1, devido à redução das infecções bacterianas e virais.

Uma outra hipótese para explicar a baixa prevalência de atopia em países em desenvolvimento e em áreas rurais seria a alta freqüência de infecções parasitárias nestas regiões. Estudos realizados por Lynch e

colaboradores na Venezuela têm demonstrado que em área endêmica para *A. lumbricoides* existe uma diminuição da reatividade aos testes cutâneos de hipersensibilidade imediata, associado a elevados níveis de IgE total e baixos de IgE específica para aeroalérgenos (Lynch et al., 1993). Além disso, foi constatado que o tratamento da população estudada com anti-helmíntico resultou em aumento da positividade ao teste de alergia e da produção de IgE específica para aeroalérgenos (Lynch et al., 1993).

Classificando a população infectada por geohelmintos de acordo com a carga parasitária, Lynch e colaboradores (Lynch et al., 1987a) demonstraram que a baixa carga parasitária estava associada a maior reatividade cutânea a aeroalérgenos, enquanto que indivíduos com alta carga parasitária apresentavam menor reatividade cutânea, a despeito de elevados níveis de IgE específico para ácaros. Outros autores em trabalhos mais recentes vêm demonstrando resultados semelhantes. Em estudo realizado no Gabão, localizado na África, apenas 11% das crianças em idade escolar reagiram aos antígenos de ácaro de poeira domiciliar no teste cutâneo de leitura imediata, embora 32% apresentassem IgE específica para os referidos ácaros (van den Biggelaar et al., 2000). Cooper e colaboradores, avaliando 2865 crianças em idade escolar residentes em uma área endêmica em geohelmintos no Equador, demonstraram baixa positividade ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata para aeroalérgenos (Cooper et al., 2003).

Em estudo realizado no Brasil foi demonstrado que em indivíduos residentes em área endêmica para esquistossomose, a frequência de positividade aos testes cutâneos de hipersensibilidade imediata com aeroalérgenos foi significativamente menor nos indivíduos infectados com alta

carga de *S. mansoni*, quando comparados com indivíduos não infectados ou com baixa carga parasitária residentes na mesma região (Araujo et al., 2000).

A prevalência de doenças alérgicas entre indivíduos residentes em áreas endêmicas em infecções por helmintos comparada com indivíduos de área não endêmica é um assunto controverso, havendo uma tendência a uma menor prevalência de asma entre os indivíduos com esquistossomose (Catapani et al., 1997).

Um estudo realizado em populações de baixo nível sócio-econômico em três localidades do Estado da Bahia (duas áreas rurais, uma delas endêmica para esquistossomose e uma área urbana na periferia da cidade de Salvador) demonstrou não existir diferença significativa na prevalência de asma entre estas três áreas (Medeiros et al., 2003). Entretanto, a gravidade da asma, avaliada por meio de parâmetros clínicos como uso de medicamentos anti-asmáticos, necessidade de atendimento médico e através de exames físicos, foi menor nos indivíduos residentes em área endêmica quando comparados com asmáticos residentes em área rural e urbana não endêmicas em esquistossomose (Medeiros et al., 2003). Corroborando com estes dados, em estudo realizado na área endêmica no município do Conde - Bahia foi demonstrado que indivíduos infectados pelo *S. mansoni* apresentavam formas leves da asma e que após o tratamento com anti-helmíntico houve uma piora nas manifestações clínicas da doença (Almeida, 2004).

Existem algumas hipóteses para explicar a baixa freqüência de positividade aos testes alérgicos e a menor gravidade da asma em indivíduos infectadas por helmintos, dentre elas a grande produção de IgE policlonal que inibiria a produção de IgE específica ou competiria com esta pela ligação nos receptores dos mastócitos (Godfrey, 1975; Lynch et al., 1993; Lynch et al.,

1987b; Merrett et al., 1976); altas concentrações da IgG4 antígeno-específica que poderia competir com a IgE pela ligação com o antígeno (Hussain et al., 1992) e mecanismos regulatórios da resposta imune, a exemplo do desenvolvimento de células regulatórias e da produção elevada da IL-10 (Araujo et al., 1996; King et al., 1996) e TGF- β (Letterio, 1998).

A hipótese de que níveis elevados de IgE interferiria na positividade aos testes cutâneos não foi confirmada em trabalhos que mostraram maior frequência de indivíduos produtores de IgE específica para aeroalérgeno dentre os respondedores a estes antígenos nos testes cutâneos de leitura imediata (Lynch et al., 1993; Scrivener et al., 2001; van den Biggelaar et al., 2000). Além disso, em estudo realizado por Araujo e colaboradores, não foi observado diferença significativa nos níveis de IgE total e específica para *D. pteronyssinus* entre indivíduos infectados pelo *S. mansoni* com baixa ou alta carga parasitária, que responderam diferentemente no teste cutâneo de hipersensibilidade imediata, ou seja, no grupo de indivíduos infectados com alta carga parasitária, houve uma menor positividade aos testes cutâneos (Araujo et al., 2000).

O aumento da produção de IgG4 vem sendo apontado como um possível mecanismo envolvido na melhora clínica de pacientes atópicos durante imunoterapia específica com alérgenos (Ebner et al., 1997; Platts-Mills et al., 2001). Entretanto, em estudo recente realizado no Gabão, a ausência de reatividade cutânea para alérgenos em indivíduos parasitados por helmintos não foi associada com a elevação nos níveis de IgG4 (van den Biggelaar et al., 2000).

Alguns estudos recentes (Araujo et al., 2004; van den Biggelaar et al., 2000) apontam para a possibilidade da IL-10, produzida em altos níveis por

indivíduos infectados por helmintos, estar envolvida na modulação da resposta inflamatória na alergia. Outra possibilidade é a de que células regulatórias, por meio da expressão de IL-10 e / ou TGF- β , ou ainda pela expressão do CTLA-4, possa modular a resposta imune nos indivíduos atópicos infectados por helmintos. A expressão de outras moléculas co-estimulatórias, a exemplo de B7.1 (CD80), B7.2 (CD86) e ligante de CD40 (CD40L) também podem influenciar no estado de ativação celular em modelos de infecção por helmintos e interferir na resposta inflamatória nas alergias (MacDonald et al., 2002).

IV.4 Ativação celular na asma e na infecção pelo *S. mansoni*

A ativação das células T requer pelo menos dois sinais independentes. O primeiro é dado pela ligação do complexo peptídeo-complexo de histocompatibilidade principal (MHC) ao receptor de células T e o segundo por um sinal co-estimulatório que é emitido pela ligação de moléculas B7 (B7.1 ou B7.2), presentes nas células apresentadoras de antígenos, com os seus receptores nas células T, a molécula CD28 (Bretscher, 1970) (Bretscher, 1970). Em células T virgens, CD28 é o único receptor para moléculas B7. Uma vez que as células T estejam ativadas, elas passam a exibir um receptor adicional, homólogo ao CD28, chamado CTLA-4 (CD152) (Walunas et al., 1994). Este se liga às moléculas B7 com 20 vezes mais avidéz, apesar de ser menos abundante que o CD28, emitindo um sinal inibitório à célula T ativada, limitando a quantidade de produção do fator de crescimento de células T, a IL-2 (Mandelbrot et al., 1999). Assim, a ligação de CTLA-4 às moléculas B7 é essencial para a limitação de resposta proliferativa das células T ativadas. Isso foi confirmado utilizando camundongos desprovidos do gene CTLA-4. Tais

camundongos desenvolvem uma doença fatal caracterizada por massiva proliferação de linfócitos (Costello et al., 1998).

Alguns estudos têm demonstrado que CTLA-4 tem papel importante na modulação da resposta inflamatória envolvida na asma. O tratamento com proteína de fusão contendo o domínio extracelular do CTLA-4 e a porção Fc da IgG1 humana (CTLA-4Ig) em modelo murino de asma sensível a ovoalbumina, reduziu a produção de IL-4 e IL-5 consideravelmente. Além disso, o uso de anticorpo anti-B7.2 tem efeitos similares, sugerindo que a interação do CD28 com B7.2 é importante no desenvolvimento da resposta imune do tipo Th2 (Tsuyuki et al., 1997). Em humanos também tem sido demonstrada a importância das moléculas CD28, CTLA-4 e B7.2 na resposta imune.

Recentemente foi realizado um estudo *in vitro* para avaliar a influência do antígeno solúvel de verme adulto de *S. mansoni*, PIII, na expressão de moléculas co-estimulatórias em indivíduos com esquistossomose crônica. Este antígeno previne a formação de granuloma e estimula a produção de IL-10 (Hirsch, 1996; Hirsch et al., 1997; Zouain et al., 2001). Neste estudo foi observado que o antígeno PIII é capaz de diminuir a expressão de CD28 tanto em células CD4⁺ quanto em CD8⁺; aumentar a expressão de CTLA-4 em células CD8⁺ e aumentar a expressão de B7.2 em monócitos. Estes resultados sugerem que a interação entre B7.2 e CTLA-4 pode ser responsável pelo sinal negativo na formação do granuloma (Zouain et al., 2004).

Outras moléculas co-estimulatórias envolvidas na resposta imune na esquistossomose e alergia incluem CD40 e CD40L. A síntese de IgE pelos linfócitos B é dependente de dois sinais de ativação celular. O primeiro deles é fornecido por IL-4 e IL-13 e o segundo é gerado quando CD40L, que é expresso na superfície de células T após exposição antigênica, se liga ao

CD40 que, por sua vez, é encontrado na superfície de linfócitos B ou outras células apresentadoras de antígenos. Um estudo utilizando camundongos deficientes para CD40 ou CD40L demonstrou que estas duas moléculas têm importante participação na síntese de IgE, porém não interferem na indução da eosinofilia broncopulmonar após inalação sucessiva de *Aspergillus fumigatus* (Mehlhop et al., 2000). Adicionalmente, CD40 está associado a aumento da reatividade das vias aéreas na ausência de estímulo antigênico, enquanto que o CD40L é necessário para a indução da hiperreatividade brônquica após estímulo antigênico (Mehlhop et al., 2000). Em modelos de camundongos deficientes para o gene que codifica o CD40L, MacDonald e colaboradores demonstraram que a interação CD40/CD40L é necessária para o desenvolvimento de uma resposta imune adequada durante a infecção pelo *S. mansoni*, e que a ausência do CD40L interfere na ativação dos linfócitos B. Estes, por sua vez, apresentam reduzido estado de ativação demonstrado pela baixa expressão de MHC classe II (MacDonald et al., 2002). Portanto, a interação CD40-CD40L é importante para o desenvolvimento da resposta Th2 na esquistossomose e no modelo de asma parece estar envolvido com a patogênese da doença.

IV.5 Regulação da resposta imune na asma e infecção pelo *S. mansoni*

A IL-10, descrita inicialmente como fator de inibição da síntese de citocinas (CSFI) por Fiorentino e colaboradores (Fiorentino et al., 1989), é produzida principalmente por macrófagos e células Th2 CD4⁺. É uma citocina com propriedade imunoregulatória, e à despeito do seu papel modulador ser predominantemente enfatizado na resposta do tipo Th1 (Del Prete et al., 1993; Sher et al., 1991), esta citocina possui também capacidade de modular a

resposta do tipo Th2 (Del Prete et al., 1993). Estudos conduzidos em áreas endêmicas em *S. mansoni* têm demonstrado que indivíduos esquistossomóticos crônicos produzem citocinas do tipo Th2, incluindo a IL-10, e não produzem, ou produzem em baixos níveis, IFN- γ (Araujo et al., 1994; de Jesus et al., 1993). Posteriormente foi demonstrado que a IL-10 regula a produção de IFN- γ na esquistossomose humana, sendo observado que a neutralização da IL-10 *in vitro* com o uso do anticorpo monoclonal anti-IL-10 restaura a linfoproliferação e a produção de IFN- γ em pacientes esquistossomóticos (Araujo et al., 1996). Uma vez que a IL-10 pode promover uma diminuição da liberação de histamina e de outros mediadores pelos mastócitos (Royer et al., 2001) e que a resposta imune a antígenos de *S. mansoni* leva à produção de IL-10, é possível que indivíduos residentes em área endêmica em esquistossomose, devido à estimulação crônica do sistema imunológico e desenvolvimento de mecanismos regulatórios, respondam menos aos testes cutâneos de alergia e apresentem menos sintomas de asma. Esta hipótese é reforçada por estudos de Biggelaar e colaboradores (van den Biggelaar et al., 2000), que mostrou redução da reatividade cutânea aos testes alérgicos com antígeno de *D. pteronyssinus* em crianças africanas infectadas com *S. haematobium* e um aumento de IL-10 em sobrenadante de cultura de células destes pacientes estimulados com antígenos do parasita.

Foi também demonstrado que células de asmáticos infectados pelo *S. mansoni* quando estimuladas com antígeno de *D. pteronyssinus in vitro* produzem níveis mais elevados de IL-10 e mais baixos de citocinas do tipo Th2, a exemplo da IL-4 e IL-5, quando comparados com asmáticos não infectados (Araujo et al., 2004). Um outro estudo avaliou a relação entre atopia e infecções por geohelmintos em escolares no Equador (Cooper et al., 2004).

Os autores demonstraram que células de indivíduos atópicos infectados por *A. lumbricoides* produziam níveis mais baixos de citocinas do tipo Th2 (IL-4 e IL-5), bem como menor liberação de histamina, quando estimuladas *in vitro* com antígenos do parasita, comparado-se com atópicos não infectados (Cooper et al., 2004). Neste trabalho, os autores sugerem que TGF- β e, principalmente, IL-10 possam estar envolvidos na modulação da produção de citocinas do tipo Th2.

O TGF- β faz parte de um grupo de citocinas chamadas “superfamília do TGF- β ”, que está relacionada com a regulação do crescimento das células epiteliais, além da regulação da diferenciação, mobilidade, organização e apoptose destas células (Massague et al., 1992). O TGF- β é uma proteína extracelular expressa virtualmente em todos os tipos celulares (Sporn et al., 1986), o que inclui macrófagos, células matadoras naturais (NK), além de células T e B. Possui propriedades tanto pró- como anti-inflamatória, a depender da concentração e do ambiente (Wahl, 1994). Os estudos iniciais avaliando o efeito do TGF- β na função do linfócitos humanos revelaram que esta citocina é capaz de inibir a proliferação de linfócitos dependente de IL-2 (Kehrl et al., 1986). Tem sido demonstrado que o TGF- β 1, uma das três isoformas do TGF- β encontradas em mamíferos, tem atividade inibitória de células inflamatórias como células T, células B, células dendríticas, mastócitos e eosinófilos, além de modificar a função de células estruturais como células do epitélio brônquico, fibroblastos e células do músculo liso dos brônquios (Hirst, 2000; Holgate, 2000; Wahl, 1992). Além disso, recentemente foi demonstrado em modelos experimentais que o TGF- β é capaz de inibir a hiperreatividade e a inflamação das vias aéreas (Hansen et al., 2000).

Além dos monócitos / macrófagos e das células Th2, que têm sido descritos como fontes importantes da produção de IL-10 e TGF- β , outro grupo de células descrito recentemente, as células T regulatórias, parece produzir estas citocinas em altos níveis e participar da regulação da resposta imune (Read, 2001). Estas células podem estar envolvidas na modulação da resposta imune pela infecção por *S. mansoni*, em modelos experimentais de alergia e auto-imunidade.

As células T regulatórias são originadas por duas formas distintas. Uma delas surgem a partir do timo como um subtipo distinto de células T maduras com funções definidas (Smith et al., 1997) e a outra a partir da diferenciação das células T virgens na periferia após o contato com elevadas concentrações de antígeno (Akdis et al., 1998; Weiner, 1997; Yssel et al., 2001).

Já foram descritos pelo menos 4 tipos principais de células TCD4⁺ com capacidade de regular a resposta imune. São as células T auxiliares tipo 3 (Th3), células T regulatórias 1 (Tr1), células T matadoras naturais (TNK) e células TCD4⁺ expressando a molécula CD25 (CD4⁺CD25⁺) (Akbari et al., 2003).

As células Th3 foram descritas inicialmente pelo grupo de Weiner e colaboradores (Chen et al., 1994). Elas podem ser induzidas por antígenos orais nos linfonodos mesentéricos e produzem altos níveis de TGF- β e quantidades variáveis de IL-4 e IL-10. Estas células são capazes de inibir o desenvolvimento de encefalomielite autoimune experimental, sugerindo que são capazes de inibir o efeito patogênico de células T autoreativas (Chen et al., 1994).

Roncarolo e colaboradores (Groux et al., 1997) demonstraram que a ativação crônica das células TCD4⁺ humanas ou de camundongos, na

presença de IL-10 leva a aumento da proporção de células Tr1. Este subtipo específico de células regulatórias tem baixa capacidade proliferativa e produz altos níveis de IL-10, baixos de IL-2 e não produz IL-4 (Groux et al., 1997). Tem sido demonstrado que estas células regulam a resposta imune antígeno específica e inibe a função de células T autoreativas e células Th2 *in vivo* (Cottrez et al., 2000; Katagiri et al., 2002).

As células TNK compreendem uma população de células T que expressam em sua superfície marcadores característicos tanto de células NK quanto de células T e tem sido demonstrado que estas células possuem potente atividade regulatória em doenças autoimunes (Wilson, 2003). As células TNK podem expressar tanto a molécula CD4 quanto ser duplamente negativa, dependendo da IL-5 para sua sobrevivência (Matsuda et al., 2002). Elas possuem um repertório restrito de receptor de células T, apresentando a cadeia invariável V α 24-J α 15 em humanos, os quais reconhecem antígenos glicolipídicos que são apresentados por moléculas de MHC classe I não polimórfica como a proteína CD1 (Brossay et al., 1998).

As células TCD4⁺CD25⁺ foram descritas por Sakaguchi e colaboradores (Sakaguchi et al., 1995) como uma pequena fração das células TCD4⁺ (aproximadamente 10%) Há evidências de que células TCD4⁺CD25⁺ são células imunoregulatórias capazes de prevenir doenças autoimunes órgão-específicas (Sakaguchi et al., 1995) e atopia (Lafaille, 2002). Apoiando esta teoria, indivíduos com ausência de células TCD25⁺ (síndrome XLAAD/IPEX) desenvolvem alergia alimentar e eczema severo, além de altos níveis de IgE e eosinofilia (Umetsu et al., 2003).

Existe discrepância nos resultados dos vários trabalhos que estudam as células TCD4⁺CD25⁺ em relação ao perfil de citocinas produzido. Alguns

estudos demonstram que estas células não proliferam e não secretam qualquer citocina após estímulo *in vitro* (Groux, 2001), enquanto outros têm relatado que as células TCD4⁺CD25⁺ transcrevem IL-4, IL-10 e TGF-β mais ativamente do que as células TCD4⁺CD25⁻ (Takahashi et al., 1998).

Ainda não está muito claro se este subtipo celular promove a modulação da resposta imune pelo contato direto célula-célula, num processo dependente da sinalização via CTLA-4 e / ou com secreção de TGF-β (Umetsu et al., 2003) ou num processo independente do contato celular, por meio de fatores solúveis como a IL-10 (Dieckmann et al., 2002) e / ou TGF- β (Jonuleit et al., 2002).

O estudo das células regulatórias CD4⁺CD25⁺ está sendo facilitado pelos novos marcadores que têm sido identificados, a exemplo do receptor de TNF induzido por glucocorticóide (GITR) (Shimizu et al., 2002) e o *Foxp3*, um fator de transcrição específico de células T regulatórias CD4⁺CD25⁺ (Hori et al., 2003).

V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

V.1- Local do estudo

Este estudo foi desenvolvido em Água Preta distrito pertencente ao município de Gandu, Bahia, localizado no Litoral Sul, a 280 km de Salvador (Figura 5). O povoado de Água Preta compreende uma comunidade residente na vila principal e moradores de fazendas da vizinhança, totalizando cerca de 500 habitantes.



Figura 5. Localização do município de Gandu - Bahia. Fonte: Wikipédia, 2010

As condições sanitárias da região são precárias, colocando os moradores sob alto risco de infecções parasitárias. Não existe saneamento básico, a água fornecida na cidade é proveniente de uma estação de água da própria região sem tratamento adequado para consumo humano, A população usa o rio para lavagem de roupas, utensílios domésticos e para o banho, sendo assim um local propício para a transmissão da esquistossomose. Não há sistema de esgotamento sanitário e o destino dos dejetos é feito em céu aberto ou em fossas artesanais.

A principal fonte de renda da população é a agricultura cacaueteira. O acesso da população aos serviços de saúde é difícil e existem apenas relatos de tratamentos prévios esporádicos com anti-helmínticos. A análise coproparasitológica mostrou que cerca de 60% da população do povoado de Água Preta está infectada pelo *S. mansoni* e este parasito constitui o helminto mais frequente nessa população, seguido pelos parasitos *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancilostomídeos* e *Strongyloides stercoralis* cujas frequências foram, respectivamente, 43,4%, 37,4%, 33,7% e 3,5%.

Outros helmintos como o *Enterobius vermicularis*, *Trichostrongylus spp* e *Hymenolepis nana* apresentaram frequências menores que 1,0%. Com relação aos protozoários intestinais, pôde-se observar que a *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*, *Iodamoeba butschlii* e *Giardia intestinalis* foram os mais prevalentes, com frequências respectivas de 39,5%, 32,0%, 6,3%, 5,4% e 4,5% (Souza, 2010).

Água Preta, conta com um posto de saúde e agentes de saúde que colaboraram na execução do trabalho de pesquisa pela equipe do SIM da Universidade Federal da Bahia. Médicos alergistas que fazem parte do trabalho fizeram a avaliação clínica, prova de função pulmonar e testes cutâneos nos asmáticos da região. A Radiografia do tórax (Raios-X) foi realizado em uma clínica para diagnóstico no município de Gandu-BA.

V.2- Desenho do estudo

Este trabalho é parte do estudo “*Efeito do tratamento da esquistossomose sobre as manifestações clínicas e resposta imune da asma*” que vem sendo realizado por pesquisadores do SIM-UFBA em Água Preta.

Trate-se de um estudo que foi parte de um estudo randomizado, duplo cego, controlado com placebo, com dois grupos de asmáticos infectados pelo *S. mansoni* pareados por faixa etária (5 anos a 50 anos), onde foram avaliados os efeitos do tratamento anti-helmíntico na gravidade da asma, avaliados segundo critérios clínicos e prova de função pulmonar e também sobre a celularidade do escarro induzido. Todos os indivíduos incluídos neste estudo foram diagnosticados por um pneumologista/alergista previamente como portadores de asma, em um inquérito epidemiológico feito para o estudo supracitado realizado na área endêmica de Água Preta, município de Gandu-Bahia. Adicionalmente, foi comparado a celularidade do escarro dos pacientes residentes na área endêmica em esquistossomose com pacientes asmáticos não infectados pelo *S. mansoni* atendidos no ambulatório de alergia Hospital Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia.

Um questionário padronizado ("International Study of Asthma and Allergy and Childhood"- ISAAC, (ANEXO I) (Asher, 1998) com questões básicas, abrangendo nível socioeconômico, existência de história pessoal de asma brônquica nos últimos 12 meses, presença de rinite alérgica, história familiar de atopia, patologias concomitantes, condições de habitação foi aplicado em amostra populacional do distrito de Água Preta. Todos os indivíduos com diagnóstico de asma foram admitidos no estudo por ordem de atendimento ao recrutamento. Eles foram randomicamente divididos em dois grupos utilizando-se um programa de computador *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 9.0. Um grupo foi tratado inicialmente com anti-helmínticos - Albendazol e Praziquantel (GRUPO II) e outro grupo foi tratado com placebo (GRUPO I). Após 90 dias, o Grupo I, que recebeu placebo foi

tratado com anti-helmínticos - Albendazol e Praziquantel (conforme fluxograma do Estudo).

No momento da inclusão no estudo, os pacientes responderam a um questionário para avaliação da gravidade de asma (ANEXO III) e foram submetidos a um exame físico como parte da determinação do escore de gravidade da doença (Medeiros et al., 2003), além de RX de tórax, espirometria e testes cutâneos para aeroalérgenos. Os pacientes do Grupo I foram tratados com placebo, enquanto os pacientes do Grupo II foram tratados com anti-helmínticos e os dois grupos foram reavaliados clinicamente durante todas as visitas do estudo (D0, D7, D60 e D90). O Raio X de tórax foi feito no D0 e no D7 e as espirometrias foram realizadas em todas as visitas onde foram realizados escarro induzido (D0, D7, D60 e D90) . Após 90 dias do primeiro tratamento o grupo foi tratado novamente com anti-helmínticos. Os indivíduos dos dois grupos foram re-avaliados quanto à gravidade da asma (escore de gravidade e espirometria) nos dias: D7, D60 e D90 após o tratamento (fluxograma do estudo).

FLUXOGRAMA DO ESTUDO

Indivíduos infectados pelo *S. mansoni* e com asma leve/moderada (ISAAC) 5-50 anos, ambos os gêneros - residente na área endêmica

↓ Avaliação pré-tratamento

- Avaliação clínica e questionário de gravidade (Escore), espirometria, Teste de alergia
 - Rx de tórax,
 - Randomização para definição dos dois grupos (randomização estratificada por faixa etária – 5-19 e 20 a 50 anos). - Duplo cego, controlada com placebo.

↓ D0

Tratamento	
Grupo I (n=20) Placebo	Grupo II (n=25) Albendazol

Escarro Induzido
 Espirometria
 Questionário de gravidade da asma e avaliação clínica (Escore)

↓ D7

Tratamento	
Grupo I (n=20) Placebo	Grupo II (n=25) Praziquantel

↓ D14

- Escarro Induzido D7, D60 e D90
 - Espirometria - D7, D60 e D90
 - Avaliação clínica e questionário de gravidade (Escore)
 - Rx - D7 e D14

↓ D90

Tratamento	
Grupo I Albendazol	Grupo II Albendazol
Avaliação clínica e questionário de gravidade (Escore) no D7 e D14.	

↓ D100

Tratamento	
Grupo I Praziquantel	Grupo II Praziquantel
Avaliação clínica e questionário de gravidade (Escore)	

Desfecho Principal: eosinofilia do escarro induzido.

Outros desfechos: medidas da gravidade da asma por meio de espirometria e escore de gravidade.

V.3- Critérios de inclusão e exclusão

V.3.1. Critérios de inclusão:

- a) indivíduos com asma leve a moderada;
- b) idade entre 5 a 50 anos;
- c) residir em área endêmica em esquistossomose de Água Preta- BA para compor o grupo de estudo.
- d) indivíduos com diagnóstico de asma leve/ moderada para atendidos no ambulatório de alergia do HUPES-UFBA para compor o grupo controle.

V.3.2. Critérios de exclusão. Não foram admitidos no estudo:

- a) indivíduos com idade inferior a 5 anos, pela dificuldade em fazer o exame de espirometria e superior a 50 anos por estarem numa faixa etária onde já pode ocorrer doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC);
- b) indivíduos que tenham feito uso de anti-histamínicos nas últimas 72 horas, bem como de corticosteróides e anti-leucotrienos nos últimos 30 dias, pela possibilidade de interferir nos resultados dos testes de alergia.
- c) mulheres gestantes, pela possibilidade de interferência com os resultados da avaliação da resposta imune;
- d) aqueles que apresentem alguma condição que não permita estrita colaboração na realização dos exames;
- e) indivíduos com asma grave;

- f) indivíduos com a forma hepato-esplênica da esquistossomose. Essas condições reconhecidamente alteram a resposta imunológica,
- g) indivíduos nos quais não se conseguiu amostras adequadas do escarro induzido.

V.4. Cálculo do tamanho amostral

Este estudo foi desenhado para um tamanho amostral de 40 indivíduos, de acordo com o cálculo do tamanho amostral que tomou por base um estudo piloto prévio que demonstrou piora da gravidade da asma em 45% dos indivíduos após o tratamento imediato das helmintíases (Araujo et al., 2004). Para uma diferença de 45% na freqüência de escore de gravidade da asma ≥ 1 entre pré e pós-tratamento com anti-helmínticos, o número mínimo de pacientes por grupo deveria ser 18, considerando o IC de 95% e um poder de 80%.

Foram incluídos no presente estudo todos os 45 indivíduos que referiram sintomas de asma, em questionários aplicados nas visitas a área endêmica em esquistossomose e com parasitológico de fezes positivo para *S. mansoni* no povoado de Água Preta, município de Gandu-Ba e que preencheram todos os critérios de inclusão.

No escarro induzido, avaliou-se as células inflamatórias: eosinófilos, neutrófilos, macrófagos e as células mononucleares, sendo estas avaliações realizadas no período considerado basal ou anterior ao tratamento, e acompanhadas 7 dias (D7), 60 dias (D60) e 90 dias (D90) após o tratamento. Desta forma, foram considerados os perfis de contagem global e diferencial encontrado no escarro dos pacientes durante os períodos mencionados.

V.5. Avaliação da gravidade da asma

A avaliação da gravidade da asma foi realizada utilizando-se o questionário para avaliação de gravidade de asma (ANEXO II) e dados do exame físico (Medeiros et al., 2003). O escore de gravidade de asma varia de 0 a 2, sendo este último referente a asma mais grave. Foram considerados:

Escore Critérios de gravidade	0	1	2
Exame físico	normal	tosse e/ou sibilos e/ou dispnéia.	----
Crises de asma	nenhuma	se tratamento domiciliar	emergência ou hospital
Uso de medicamentos	nenhum	Broncodilatadores	corticosteróide oral ou parenteral.

Figura 6. Escore de gravidade da asma

V.6. Avaliação complementar nos indivíduos do estudo

V.6.1. Testes alérgicos

Os testes alérgicos foram realizados pela técnica de puntura, utilizando-se os antígenos *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae*, *Blomia tropicalis*, *Periplaneta americana* e *Blatella germânica* (IPI-ASAC, Madrid, Espanha). As leituras dos testes foram realizadas após 20 minutos. Os resultados dos testes foram avaliados em mm e considerados positivos aqueles onde o diâmetro da pápula obtido foi ≥ 3 mm para um ou mais alérgeno. (ANEXO III). (Medeiros et al., 2004).

V.6.2. Provas de função pulmonar

Foram realizados testes para avaliação de função pulmonar basal e avaliado se o indivíduo preenchia os critérios para a realização do escarro induzido. Se o VEF1 (fluxo expiratório forçado no primeiro segundo) estivesse acima de 60% do valor predito, imediatamente após uso de 200mcg de broncodilatador (Aerolin® Spray 100 mcg) dois “puffs” por via oral, o escarro era induzido para obtenção da amostra. Ao término da coleta, o teste da função pulmonar foi repetido. Para a realização da prova de função pulmonar foi utilizado um espirômetro computadorizado, da marca Koko com broncoprovocação, com valores basais preditivos da população brasileira (Pereira, 1996). Os valores pré e pós-broncodilatador foram comparados para avaliar se o paciente estava com sua capacidade pulmonar normal em relação ao início da provocação com a solução salina.

V.6.3. Radiografia do tórax

Os raios-X de tórax foram realizados em todos os pacientes em uma clínica de exames por imagem localizada no município de Gandu, próximo a área endêmica.

V.6.4. Exame parasitológico de fezes

Foram avaliadas 3 amostras de fezes através da técnica da sedimentação espontânea e de Kato-Katz (Katz et al., 1970), para a determinação da carga parasitária dos helmintos.

V.7. Indução e coleta do escarro

Os pacientes foram orientados logo após a realização da espirometria basal (pré-BD) a fazer uso dos dois “puffs” de broncodilatador (Aerolin 200mcg) e, imediatamente a inalar a solução salina (4,5%) por 15 minutos via oral. A nebulização foi feita com nebulizador Inalar compact ®, com taxa de nebulização de 0,15-0,25ml/min. Com as narinas livres eles deveriam respirar normalmente. Foram incentivados a tossir e escarrar em um pote. Os pacientes com VEF1 < 60% foram orientados a tossir em um pote estéril de polipropileno, sendo feita uma coleta espontânea.

A coleta do escarro induzido foi baseada na técnica de Pizzichini (Efthimiadis et al., 1997) modificada para o nebulizador utilizado e a confecção das lâminas para contagem diferencial.

V.7.1. Avaliação do escarro induzido

Todos os indivíduos foram submetidos a uma espirometria para avaliação do VEF1. Pacientes com VEF1 \geq 60%, foram submetidos a indução do escarro, enquanto aqueles indivíduos com VEF1 < 60% foi solicitada uma amostra espontânea. O escarro foi obtido através de uma nebulização com solução salina a 4,5% por 15min e colocados em coletores, armazenado em isopor com gelo para o processamento (até 4) horas após a coleta (Cai et al., 1998; Drews et al., 2006).

As amostras foram centrifugadas por dez minutos a 3000rpm, desprezou-se o sobrenadante e acrescentou-se a mesma quantidade de cisteína 1/1 ao precipitado. Homogeneizou-se a amostra até a quebra total do muco e centrifugou-se por mais 10 min. Após a 2ª centrifugação desprezou-se o sobrenadante, homogeneizando o precipitado pipetando 10 μ l e fez-se a

contagem global em câmara de Neubauer. O precipitado também foi utilizado para a confecção do esfregaço, onde colocou-se 20µl do precipitado em uma lâmina com a identificação do paciente e data da coleta.

O material foi espalhado na lâmina e esta foi reservada, até sua secagem total, após 24h, corado pelo método de Wright para posterior contagem diferencial das células.

A contagem diferencial foi feita de acordo com as características específicas de cada célula, sendo feita um contagem de 200 a 400 células inflamatórias (macrófagos, eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares). O ponto de corte utilizado para eosinófilos foi 2,5% (Palomino et al., 2005) devido a população em estudo ser formada em sua maioria por crianças e adolescentes. Para os neutrófilos, 65%(Efthimiadis et al., 1997).

VI. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O presente estudo caracterizou dois grupos de pacientes provenientes de Gandu-Ba e outro grupo do Ambulatório – HUPES. Os pacientes de Gandu-Ba foram avaliados durante 90 dias quanto à celularidade, onde tratou-se dois grupos de pacientes, os que fizeram uso de placebo os que fizeram uso do praziquantel.

A amostra foi composta por 30 indivíduos, onde 8 (26,7%) foram provenientes do ambulatório – HUPES-Ba e 22 (73,3%) indivíduos de Gandu-Ba. Para os 22 pacientes de Gandu-Ba consideraram-se 12 (54,5%) indivíduos que utilizaram o placebo e os outros 10 (46,5%) fizeram uso do praziquantel.

Foi utilizado o teste estatístico qui-quadrado de associação entre as variáveis para comparar os grupos em caracterizações dicotômicas. Realizou-

se também o teste não paramétrico de comparação entre medianas para as contagens percentuais encontradas no escarro dos pacientes.

Os dados foram digitalizados no software Excel e analisados através do SPSS®. Os gráficos e tabelas foram construídos através do software Excel e as análises estatísticas foram provenientes do software estatístico SPSS® Versão 11.0. Os dados referentes à amostra da população estão apresentados através de medianas, desvios-interquartílicos para variáveis quantitativas, e através de porcentagens para variáveis qualitativas. Em todos os testes foram avaliados as diferenças entre os desfechos, sendo considerados estatisticamente significantes valores de “p” inferiores ao nível de significância preestabelecidos em 5%.

VII. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo é uma parte do projeto “Avaliação da gravidade da asma e da resposta imune a antígenos de *Schistosoma mansoni* em indivíduos asmáticos residentes em área endêmicas em esquistossomose” coordenado pela Dra. Maria Ilma Araújo. Foi aprovado pelo do Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira, Universidade Federal da Bahia (Parecer/Resolução No. 042/2009 (ANEXO IV). Os participantes do estudo foram voluntários que, após esclarecimentos sobre o objetivo desta pesquisa, assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO V). No caso de menores, este foi assinado por um dos responsáveis.

Os indivíduos avaliados neste estudo foram atendidos gratuitamente, tratados para esquistossomose e orientados quanto às medidas de prevenção e tratamento adequado para asma.

VIII. RESULTADOS

VIII.1 Características demográficas dos indivíduos participantes do estudo. Asmáticos não infectados e infectados pelo *S. mansoni*

As características demográficas dos grupos dos pacientes asmáticos residentes na área endêmica de Água Preta, Gandu e dos asmáticos atendidos no ambulatório de alergia do UPES-UFBA estão mostrados na tabela 1.

Tabela 1 - Características demográficas dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni* e dos pacientes asmáticos não infectados.

Caracterização	Asmáticos infectados (n = 22)		Asmáticos não infectados*(n = 8)		p-valor**
	n	%	n	%	
Gênero					0,227
Masculino	8	36,4	5	62,5	
Feminino	14	63,6	3	37,5	
Faixa etária					0,165
5 a 19 anos	15	68,2	4	50,0	
20 a 50 anos	7	31,8	4	50,0	

* Ambulatório Magalhães Neto (HUPES)
Salvador, Bahia

** Teste de associação entre variáveis

Não houve diferença significativa quando comparados os gêneros e faixa etária entre os asmáticos residentes na área endêmica em esquistossomose ($p= 0,227$) e asmáticos não infectados ($p= 0,165$) indicando que os dois grupos são homogêneas como descrito na tabela 1.

VIII.2 Características demográficas e carga parasitária de *S. mansoni* dos indivíduos asmáticos infectados pelo *S. mansoni*.

As características demográficas dos participantes do estudo estão demonstradas na tabela 2, o gênero feminino foi predominante, ocorrendo em 14 pacientes (63,6%), e o masculino em 36,4% dos indivíduos. Avaliando o

grupo por faixa etária observamos que 15 pacientes eram formados por crianças (68,2%) e adolescentes, havendo 7 adultos (31,8%). Feito o teste de associação entre as variáveis para o gênero ($p=0,234$) e faixa etária ($p=0,167$) entre os grupos placebo ($n=12$; 54,5%) e o grupo praziquantel ($n=10$; 44,5%) não foi encontrada diferença, o que indica que os grupos são homogêneos e estão bem distribuídos na população estudada.

A carga parasitária teve uma mediana de 84 para o grupo com os 22 indivíduos estudados. Quando avaliados separadamente os grupos o que usou placebo apresentou mediana de $56 \pm 108,5$ e o grupo praziquantel apresentou mediana de 96 ± 48 . O grupo que usou o praziquantel apresentou carga parasitária mais elevada.

Tabela 2 - Caracterização demográfica e carga parasitária dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*, residentes em Água Preta Gandu-Ba.

Caracterização	Asmáticos infectados				p-valor*
	Placebo (n = 12; 54,5%)		Praziquantel (n = 10; 44,5%)		
	n	%	n	%	
Gênero					0,234
Masculino	4	33,3	4	40,0	
Feminino	8	66,7	6	60,0	
Faixa etária					0,167
6 a 17 anos	8	66,7	7	70,0	
18 a 50 anos	4	33,3	3	30,0	
Carga Parasitária <i>S. mansoni</i>					0,637
Mediana***	56		96		
Desvio**	108,5		48,0		

* Teste Qui-quadrado de associação entre variáveis (placebo e praziquantel).

** Desvio-interquartilico (Q3 - Q1)/2.

*** teste não-paramétrico de comparação entre medianas

VIII.3 Testes alérgicos

Tabela 3 - Distribuição da positividade dos testes alérgicos dos participantes do estudo asmáticos infectados e não infectados pelo *S.mansoni*.

Teste alérgico	Asmáticos infectados		Asmáticos não infectados		p-valor*
	n	%	n	%	
Teste alérgico					0,223
Positivo	11	50,0	4	80,0	
Negativo	11	50,0	1	20,0	

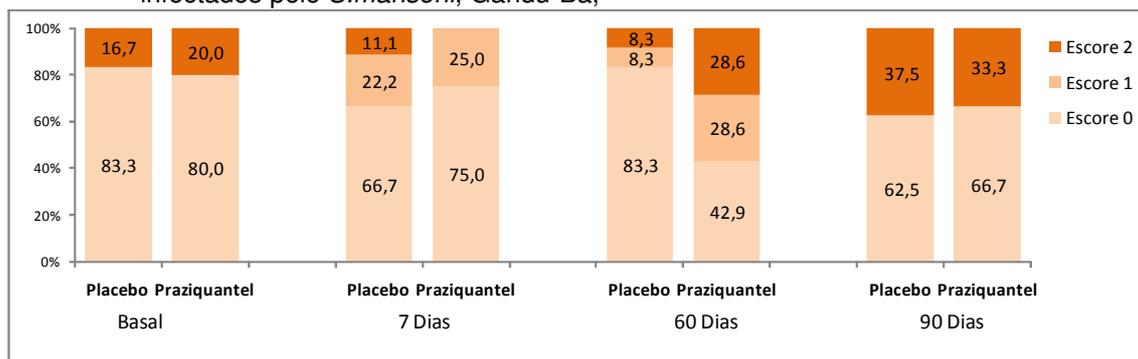
* Teste de comparação entre grupos independentes asmáticos infectados e não infectados.

A positividade para os testes alérgicos foi elevada para o grupo de asmáticos não infectados pelo *S. mansoni* (80%). Os asmáticos com infecção apresentaram 50%, não havendo, entretanto diferença significativa os grupos (tabela 3).

VIII.4 Avaliação do escore de gravidade de asma nos pacientes da área endêmica em esquistossomose.

Os escores de gravidade de asma estão representados no gráfico 1 onde se percebe, que os indivíduos apresentam 83,3% e 80% de escore (0) no basal (pré-tratamento) e 16,7% e 20% de escore dois (2) nos grupos placebo e praziquantel respectivamente. No D7, sete dias após o tratamento com o praziquantel, houve uma mudança nestes perfis onde o escore (1) foi mais representativo com 22,2% no grupo placebo e 25% no grupo praziquantel indicando uma redução dos sintomas nos dois grupos. Sessenta dias após o tratamento, houve uma queda nos escores (1) e no escore (2) no grupo placebo, enquanto que o grupo praziquantel apresentou um acréscimo dos mesmos indicando uma piora dos sintomas. No D90 os dois grupos apresentaram um aumento do escore (2) 37,5% e 33,3%, sendo semelhante o padrão entre eles.

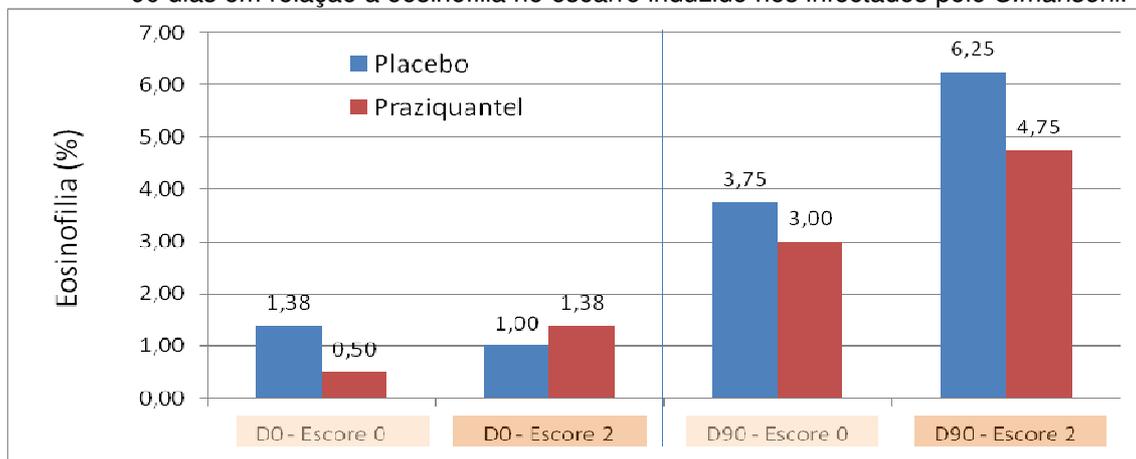
Gráfico 1: Perfil dos escores de gravidade da asma* nos dois grupos de pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*, Gandu-Ba,



*Escore com base no questionário desenvolvido por Medeiros, 2003

VIII.5 Escore de gravidade de asma e eosinófilia no escarro induzido.

Gráfico 2: Comparação dos perfis dos escores de gravidade da asma nos período basal e com 90 dias em relação a eosinofilia no escarro induzido nos infectados pelo *S.mansoni*.



Quando avaliado o número de eosinófilos em relação à gravidade da asma, observou-se que o percentual de eosinófilos no D0 dos indivíduos do grupo placebo com escore zero não diferencio-se significativamente para os que apresentaram escore 2. O mesmo ocorreu para o grupo que usou praziquantel. Esta comparação foi também realizada no D90, não havendo diferença no percentual mediano de eosinófilos nos grupos placebo e praziquantel quando comparados o escore zero e dois (Gráfico 2).

VIII.6 Celularidade do escarro induzido

As células encontradas na contagem diferencial das lâminas de escarro induzido das amostras estudada foram: eosinófilos, neutrófilos, macrófagos e células mononucleares como mostrado na tabela 4.

Tabela 4 - Contagem diferencial de células do escarro induzido nos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.

Células Inflamatórias / acompanhamento	Placebo (n = 12)		Praziquantel (n = 10)		p-valor**
	Mediana(%)	Desvio*	Mediana(%)	Desvio*	
Eosinófilos					
Basal	1,4	0,63	0,5	0,63	0,0848
7 dias	2,5	1,25	2,0	0,88	0,4970
60 dias	4,0	3,75	2,8	1,50	0,9212
90 dias	4,1	2,88	3,0	1,63	0,4970
Neutrófilos					
Basal	49,3	10,74	36,4	21,50	0,0485
7 dias	39,9	19,19	42,3	15,38	0,9212
60 dias	33,8	8,38	39,9	9,10	0,6303
90 dias	41,6	12,06	54,5	21,63	0,0848
Macrófagos					
Basal	49,6	10,08	61,9	21,50	0,0485
7 dias	57,4	18,06	54,5	17,63	1,0000
60 dias	60,5	7,75	58,1	13,55	0,4970
90 dias	53,6	10,13	40,5	22,25	0,0485
Células Mononucleares					
Basal	0,4	0,44	1,4	1,50	0,4970
7 dias	0,6	0,31	0,5	0,38	0,7758
60 dias	0,3	0,50	0,0	0,00	0,1333
90 dias	0,0	0,06	0,5	0,25	0,0242

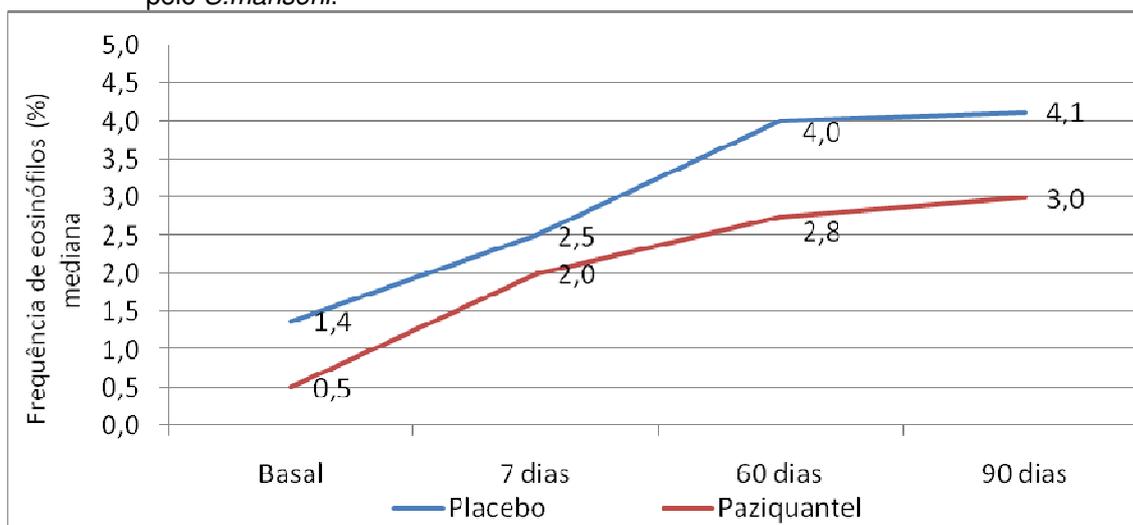
* Desvio-interquartilico (Q3 - Q1)/2

** Teste não paramétrico de comparação entre as medianas de grupos independentes.

A mediana da frequência dos eosinófilos foram de: 1,4% no basal, 2,5% com 7 dias, 4,0% com 60 dias e 4,1% com 90 dias após o tratamento com placebo e 0,5% no basal, 2,0% com 7 dias 2,8% com 60 dias e 3,0% após o tratamento com praziquantel. O escarro induzido do grupo que foi tratado com placebo apresentou-se portanto asma eosinofílica nos D60 e D90, assumindo que a asma é considerada eosinofílica a partir de 2,5% de eosinófilos (Palomino et al., 2005) (Belda et al., 2000; Lee, 2003; Palomino et

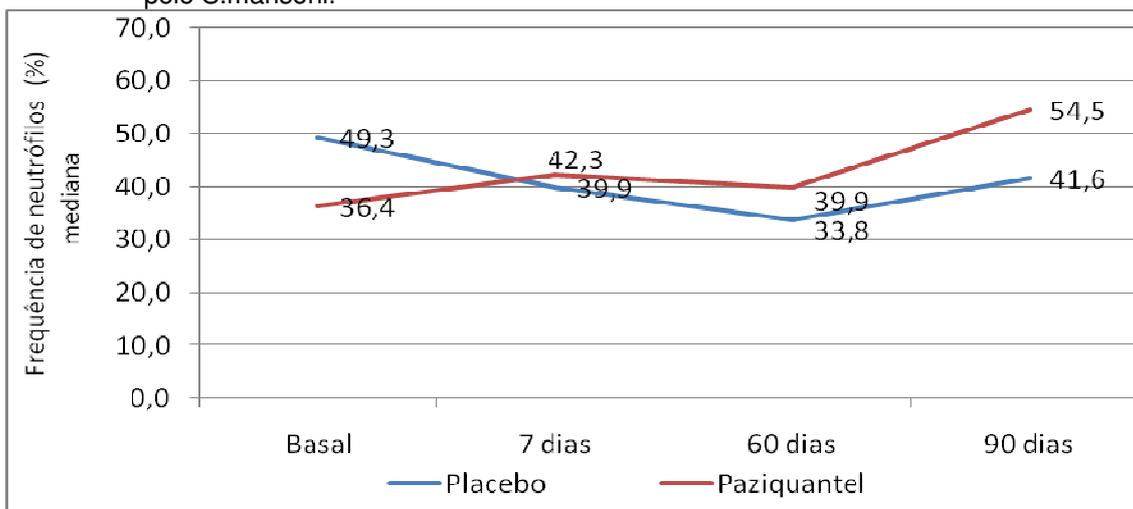
al., 2005). No grupo tratado com praziquantel também houve um aumento de eosinófilos, apresentando escarro eosinofílico no D60 e D90. Os grupos se mantiveram semelhantes durante o segmento do estudo. Foi observado que houve um aumento da frequência de eosinófilos com o tempo de segmento, entretanto não houve diferença significativa ($p=0,0848$), entre os grupos (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Frequência de eosinófilos no escarro induzido nos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.



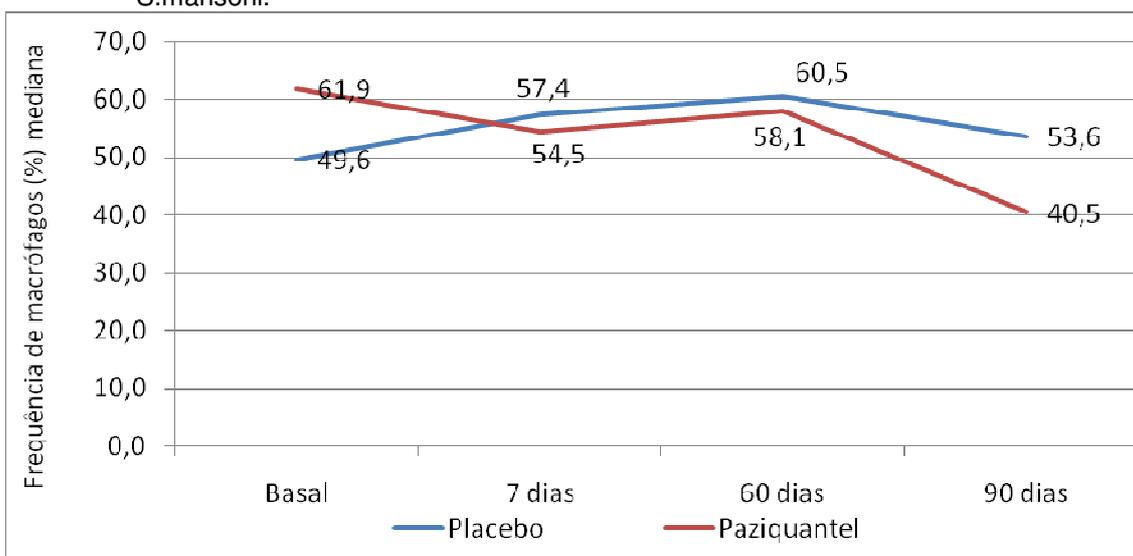
A mediana da frequência dos neutrófilos foram de: 49,3 % no basal, 39,9 % com 7 dias, 33,8% com 60 dias e 41,6%, com 90 dias após o tratamento com placebo e 36,4% no basal, 42,3% com 7 dias 39,9% com 60 dias e 54,5% após o tratamento para grupo praziquantel. A população estudada não apresentou escarro neutrofílico. O escarro é considerado neutrofílico a partir $\geq 65\%$ de neutrófilos (Belda et al., 2000; Lee, 2003). Não houve diferença significante ($p>0,05$) entre os grupos nos diferentes tempos avaliados conforme observamos no gráfico 4.

Gráfico 4 - Frequência de neutrófilos no escarro induzido em pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.



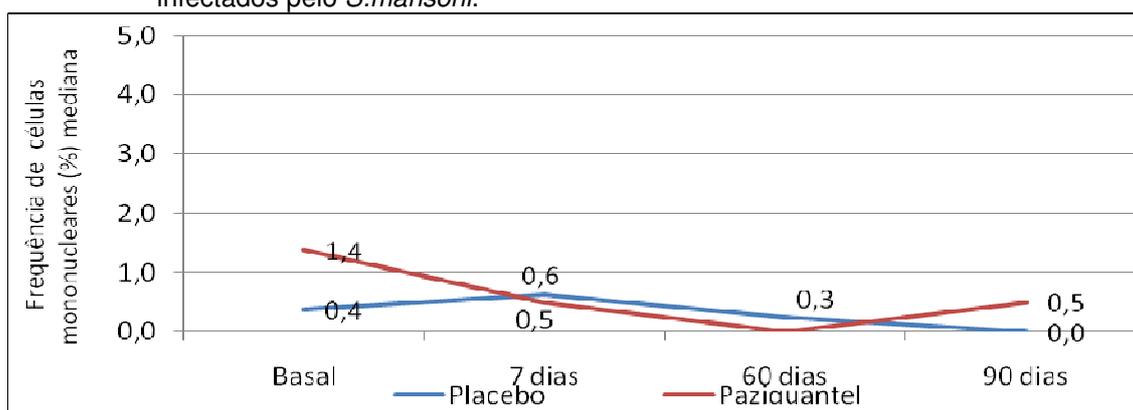
Os macrófagos foram as células predominantes do escarro com frequência mediana de: 49,6 % no basal, 57,4 % com 7 dias 60,5% com 60 dias e 53,6% com 90 dias após o tratamento com placebo e 61,9% no basal, 54,5% com 7 dias 58,1% com 60 dias e 40,5% após o tratamento para grupo praziquantel Figura 5. Assim como os neutrófilos, o aumento dessas células pode estar relacionado com os poluentes atmosféricos ou com infecção (Lee, 2003).

Gráfico 5 - Frequência de macrófagos no escarro induzido em pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.



A mediana da frequência das células mononucleares foram de: 0,4 % no basal, 0,6 % com 7 dias, 0,3% com 60 dias e 0% com 90 dias após o tratamento com placebo e 1,4% no basal, 0,5% com 7 dias 00% com 60 dias e 0,5% após o tratamento para grupo praziquantel, valores considerados normais (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Frequência de células mononucleares no escarro induzido pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.



Quando comparamos as frequências medianas entre os grupos placebo e praziquantel não foram encontrados diferenças significativas entre os mesmos.

A análise da celularidade do escarro induzido nos grupos placebo e praziquantel mostrou aumento significativo de eosinófilos no grupo placebo nos D7, D60 e D90 quando comparados ao basal. O grupo praziquantel só apresentou diferença significativa no D60 como representado na Tabela 5. Para as outras células não houve diferença significativa a exceção de células mononucleares do basal para o D7 ($p=0,0348$).

Tabela 5 - Celularidade do escarro induzido dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*, em relação ao basal nos diferentes períodos avaliados .

Células Inflamatórias / acompanhamento	Diferenças das medianas – Asmáticos infectados			
	Placebo (n = 12; 54,5%)	p-valor*	Praziquantel (n = 10; 44,5%)	p-valor*
Eosinófilos				
Basal - 7 dias	1,1	0,0541	1,5	0,1373
Basal - 60 dias	2,6	0,0217	2,3	0,0422
Basal - 90 dias	2,8	0,0172	2,5	0,1763
Neutrófilos				
Basal - 7 dias	-9,4	0,3882	5,9	0,2135
Basal - 60 dias	-15,5	0,1195	3,5	0,2489
Basal - 90 dias	-7,6	0,0929	18,1	0,3980
Macrófagos				
Basal - 7 dias	7,8	0,8139	-7,4	0,2135
Basal - 60 dias	10,9	0,2132	-3,8	0,2489
Basal - 90 dias	4,0	0,1614	-21,4	0,3980
Células Mononucleares				
Basal - 7 dias	0,3	0,3853	-0,9	0,0348
Basal - 60 dias	-0,1	0,9592	-1,4	0,0679
Basal - 90 dias	-0,4	0,0782	-0,9	0,1282

* Teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas.

O Número Total de Células foi também avaliado entre os asmáticos infectados (placebo e *praziquantel*), e está representado na Tabela 6.

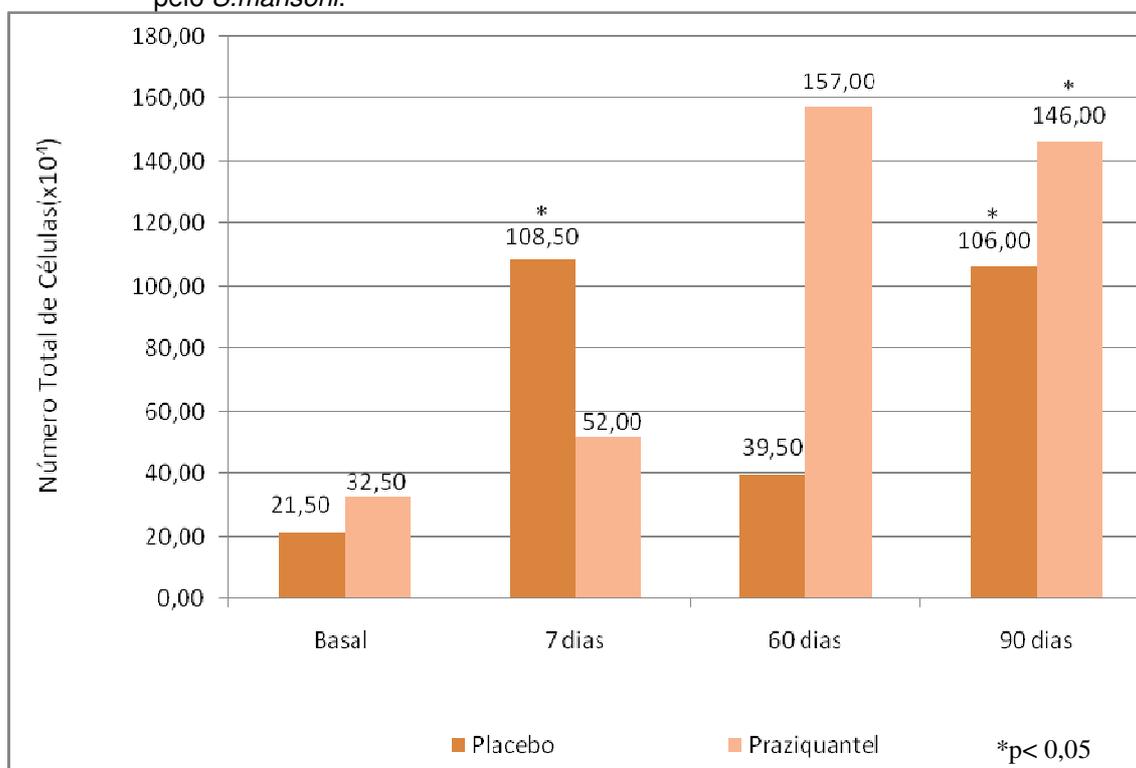
Tabela 6 - Análise do número total de células (NTC) do escarro induzido dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.

Número Total de Células (X10 ⁴)	Asmáticos Infectados				p-valor*
	Placebo (n = 12; 54,5%)		Praziquantel (n = 10; 44,5%)		
	Mediana	Desvio*	Mediana	Desvio*	
Basal	21,50	9,25	32,50	22,50	0,6699
7 dias	108,50	51,50	52,00	45,00	0,1984
60 dias	39,50	39,25	157,00	108,00	0,6699
90 dias	106,00	32,50	146,00	97,25	0,9999
Diferenças	Mediana	p-valor	Mediana	p-valor	
BASAL - 7 DIAS	87,00	0,023	19,50	0,202	
BASAL - 60 DIAS	18,00	0,071	124,50	0,139	
BASAL - 90 DIAS	84,50	0,018	113,50	0,012	

* teste não-paramétrico de comparação entre grupos relacionados (wilcoxon)

O grupo placebo apresentou mediana de células totais no período basal de $21,50 \times 10^4$, no D7 $108,50 \times 10^4$, no D60 $106,00 \times 10^4$ e no D90 $106,00 \times 10^4$ e o grupo praziquantel apresentou no período basal mediana de $32,50 \times 10^4$, no D7 $52,00 \times 10^4$ no D60 157×10^4 e no D90 146×10^4 . Não houve diferença quando feita a comparação intergrupos. Quando feita a comparação intra-grupos houve aumento significativo do período basal para o D7 e para o D90 para no grupo placebo e apenas para o D90 no grupo praziquantel. Gráfico 6.

Gráfico 7 - Número total de células no escarro induzido dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.



A eosinofilia do escarro ($\times 10^4$) foi comparada entre o período basal e após o tratamento, como mostrado na tabela 7.

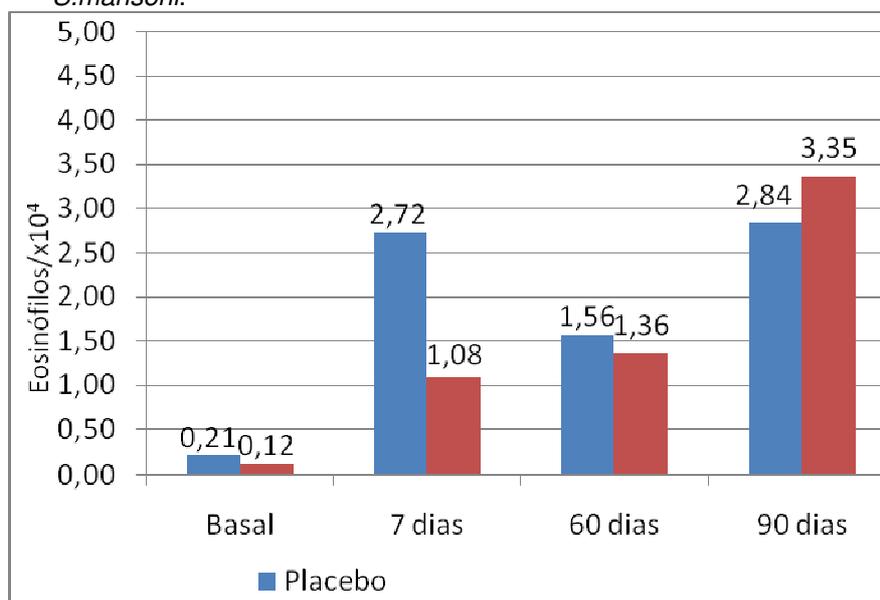
Tabela 7 - Número de eosinófilos no escarro induzido nos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.

Eosinófilos X10 ⁴	Asmáticos infectados				p-valor**
	Placebo (n = 12; 54,5%)		Praziquantel (n = 10; 44,5%)		
	Mediana	Desvio*	Mediana	Desvio*	
Basal	0,21	0,17	0,12	0,30	0,99
7 dias	2,72	1,77	1,08	0,31	0,08
60 dias	1,56	1,40	1,36	2,23	0,99
90 dias	2,84	3,72	3,35	1,33	0,99
Diferenças	Mediana	p-valor	Mediana	p-valor	
BASAL - 7 DIAS	2,52	0,038	0,96	0,011	
BASAL - 60 DIAS	1,36	0,041	1,24	0,066	
BASAL - 90 DIAS	2,64	0,018	3,23	0,012	

* teste não-paramétrico de comparação entre grupos relacionados (wilcoxon)

** Teste não paramétrico de comparação entre as medianas de grupos independentes.

Quando feita a comparação entre as medianas dos grupos placebo e praziquantel não houve diferença significativa. Quando feita a comparação dentro do mesmo grupo houve aumento significativo para o grupo placebo no D7, D60 e D90 e no grupo praziquantel no D7 e no D90. A representação gráfica destes dados encontra-se no gráfico 8.

Gráfico 8 - Frequência do eosinófilos (x10⁴) dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*.

Fazendo a avaliação da celularidade encontrada nos grupos de asmáticos sem infecção e com infecção pelo *S. mansoni* no período basal observa-se que não há diferença entre os dois grupos, como representado na tabela 8.

Tabela 8 - Celularidade do escarro induzido no período basal dos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni* e asmáticos não infectados.

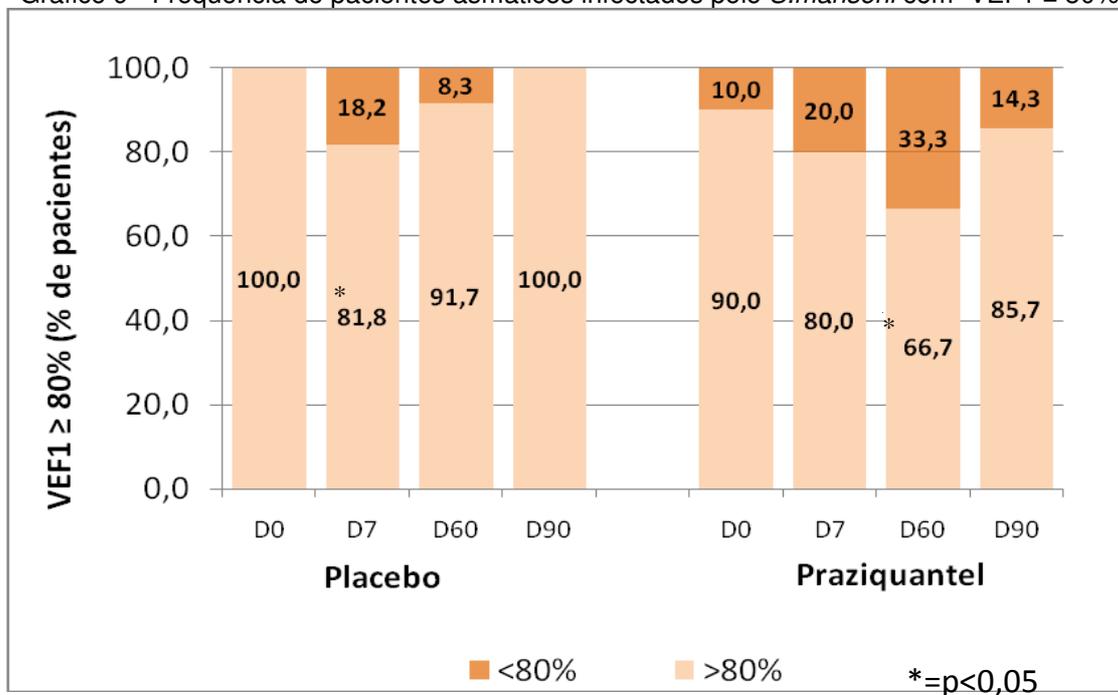
	Asmáticos não infectados (n = 8)		Asmáticos infectados (n=22)		p-valor**
	Mediana	Desvio*	Mediana	Desvio*	
Número total de Células	12,5	17,3	24,0	15,0	0,6822
Eosinófilos	0,0	1,1	0,9	0,6	0,6890
Neutrófilos	40,1	6,4	46,4	16,9	0,6820
Macrófagos	59,4	6,3	52,6	17,5	0,6820
Células Mononucleares	0,7	0,4	0,6	0,8	1,0000

* Desvio-interquartilico (Q3 - Q1)/2

** Teste não paramétrico de comparação entre as medianas de grupos independentes.

VIII.7 Espirometria nos pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni*

Gráfico 9 - Frequência de pacientes asmáticos infectados pelo *S.mansoni* com VEF1 \geq 80%



Os indivíduos do grupo placebo apresentaram VEF1(fluxo expiratório forçado no 1º segundo) acima de 80% em todos os indivíduos no basal, tendo

uma redução de 81,8% e 91,7% deste valor nos D7 e D60 respectivamente, voltando a ficar acima de 80% em 100% dos indivíduos no D90. O grupo praziquantel apresentou VEF1 em 90% dos indivíduos no basal, reduzindo para 80% no D7 e 66,7% no D60 e 85,7% no D90. Pode-se observar através da espirometria que os indivíduos que fizeram uso do praziquantel tiveram uma redução maior no valor do VEF1 nas avaliações subsequentes. Para o VEF1 observou-se que o grupo que fez uso do praziquantel houve uma maior redução com o seguimento.

VIII.8 Radiografia do Tórax

O exame radiológico dos pacientes infectados pelo *S. mansoni* não apresentou alterações nas duas avaliações realizadas no D0 e no D7 após o tratamento com praziquantel.

VIII.9 Discussão

O presente estudo avaliou a celularidade do escarro induzido ou espontâneo de asmáticos infectados por *S. mansoni* residentes em área endêmica e comparou com asmáticos não infectados atendidos no Ambulatório Magalhães Neto – HUPES, UFBA.

Estudos vêm demonstrando que o escarro induzido é uma ferramenta eficaz para a avaliação da inflamação brônquica (Drews et al., 2006; E. Pizzichini and M.M.M. Pizzichini, 1996; Palomino et al., 2005; SILVA, 2004). A eosinofilia no escarro caracteriza um sub-grupo homogêneo de pacientes asmáticos atópicos e a neutrofilia ocorre em sub-grupo heterogêneo de asmáticos não atópicos (Simpson et al., 2006).

Estudos realizados por diversos autores avaliam também a eosinofilia como um marcador de exacerbação de asma. Chakir e colaboradores (Chakir et al.), por exemplo, utilizou o estudo da celularidade do escarro para monitorar a inflamação da mucosa brônquica e o seu remodelamento, avaliando, além da celularidade, a deposição de colágeno após dois anos de tratamento. Este foi um estudo piloto, onde foram estudados 20 pacientes com asma moderada e randomizados para o estudo do escarro ou avaliação clínica. O escarro mostrou redução de eosinófilos na asma moderada após o tratamento.

No presente estudo, ao contrario do estudo de Chakir, foi avaliado se havia mudança na eosinofilia no escarro em três avaliações após o tratamento com antihelmínticos. Observando as frequências medianas pode-se assumir que o escarro dos grupos estudados (placebo e praziquantel) não apresentou-se eosinofílico no período basal e com sete dias após o tratamento. Houve entretanto um crescimento dos eosinófilos no D60 e D90 após o tratamento em ambos os grupos, tomando-se como ponto de corte 2,5% de eosinófilos (Palomino et al., 2005). Este ponto de corte foi utilizado devido ao fato de que a população de estudo foi formada por 68% de crianças e adolescentes estando de acordo com o estudo de Palomino e colaboradores (Palomino et al., 2005). Não ficou claro porém se o aumento destas células está relacionado com a piora da asma depois do tratamento, pois os dois grupos, placebo e praziquantel, se comportaram de maneira semelhante. Por outro lado, quando se analisou a evolução dos pacientes, o número de eosinófilos aumentaram em relação ao período basal nos dois grupos de estudo. Este aumento do número de eosinófilos após o tratamento nos dois grupos não é inteiramente concordante com a gravidade da asma, avaliada através do escore da espirometria. Realmente, enquanto o número de eosinófilos aumentou nos D7,

D60 e D90 após o tratamento nos dois grupos, o aumento do escore de gravidade ocorreu nos D7 e D90 do grupo placebo e nos D60 e D90 do grupo praziquantel. Em relação a espirometria, VEF1 <80% ocorreu no D60 do grupo que usou praziquantel, estando acima de 80% nos pacientes nos outros períodos avaliados e também em todas as avaliações do grupo placebo. Considerando estes resultados, o número de eosinófilos não refletiu a gravidade da asma neste trabalho. Uma possível explicação é que o número de indivíduos asmáticos incluídos neste estudo foi pequeno, não tendo este o poder para mostrar diferenças significativas. Uma outra possível explicação seria o fato de que a maioria dos indivíduos envolvidos possui a forma leve da asma não sendo possível mostrar grandes diferenças na celularidade. O fato de que não houve diferença no número de eosinófilos e de outras células, entre os asmáticos infectados e não infectados pelo *S. mansoni* ambos com asma leve, reforça esta hipótese. Será necessário portanto, avaliar a celularidade do escarro em pacientes com asma moderada a grave a fim de padronizar a técnica como auxiliar na avaliação da gravidade da asma.

Em outro estudo realizado por Romagnoli (Romagnoli et al., 2002), foram avaliados 19 indivíduos com asma não controlada, 16 pacientes com asma sob controle e 8 voluntários sadios em relação a inflamação eosinófilica. O escarro foi analisado para contagem celular total e diferencial, e os resultados sugeriam que a eosinofilia do escarro estava associado com mal controle da asma e não com a gravidade. No presente estudo pode-se inferir que o baixo número de eosinófilos encontrados no escarro no período basal e com sete dias após o tratamento nos dois grupos de pacientes asmáticos infectados pelo *S. mansoni* e asmáticos não infectados pode está

relacionada com o quadro clínico e ausência de exacerbações que eles apresentavam com base na espirometria.

Há relatos na literatura, entretanto, sugestivos de que a celularidade e outros marcadores de inflamação presentes no escarro estejam relacionados à gravidade da asma (Gibson, 1998). Por outro lado, resultados de estudos bem conduzidos contestam essa afirmação, e permanece controverso o real papel da celularidade do escarro em discriminar a gravidade da asma (Fuhlbrigge, 2004). De fato, o próprio grupo de trabalho internacional sobre escarro induzido comenta que há uma fraca relação entre a gravidade da asma definida por função pulmonar ou sintomas e a contagem de eosinófilos no escarro e que mais estudos são necessários para definir a relação entre a inflamação das vias aéreas, os sintomas e a resposta aos corticosteróides em pacientes asmáticos. (Pavord et al., 2002) Em outro trabalho, Bartoli e colaboradores (Bartoli et al., 2004) descreveram a celularidade do escarro em um grupo de 223 pacientes asmáticos de gravidade variável e 14 indivíduos controles, e notaram que pacientes com asma persistente leve e moderada não diferem quanto à contagem de eosinófilos no escarro, independentemente do tratamento regular com corticosteróides inalatórios. Ficou evidente que o percentual de eosinófilos no escarro diferenciou adequadamente os pacientes asmáticos dos controles.

A quantificação dos eosinófilos em estudos realizados por Palomino e colaboradores (Palomino et al., 2005) também não discriminou a gravidade clínica e funcional da asma e mostrou-se independente do grau de obstrução das vias aéreas em um grupo de pacientes em tratamento com corticosteróides inalatórios. A eosinofilia do escarro neste estudo deve ter sofrido influência do uso do corticóide e controle de asma.

Na análise do presente estudo houve evolução de aumento de eosinófilos após o tratamento de parasitose intestinal, como esperado, o que indicaria uma piora da asma. Houve, entretanto, aumento da eosinofilia também no grupo placebo.

No presente estudo foi também observado que a frequência de VEF1 abaixo de 80% ocorreu no grupo que fez uso do praziquantel havendo uma redução principalmente no D60 enquanto que o número de eosinófilos neste período foi 2,8%.

O número de neutrófilos encontrado neste estudo foi abaixo do descrito na literatura, para classificar o escarro como neutrofílico na asma (65%) (Efthimiadis et al., 1997) o que sugere que os neutrófilos não são componentes importantes da inflamação brônquica nos pacientes incluídos, sendo a asma nestes pacientes provavelmente atópica.

Sobre o importante aumento da celularidade total em relação à exacerbação da asma, há consenso porém (Gibson et al., 2003; Twaddell et al., 1996). Isso deve-se provavelmente a maior descamação do epitélio e ao maior influxo de células inflamatórias. O aumento do número total de células foi também avaliado neste estudo, sendo maior no D7 e no D90 em relação ao basal do grupo placebo, e no D90 do grupo que usou o praziquantel, provavelmente devido ao aumento do número de eosinófilos.

Dos 45 pacientes asmáticos infectados pelo *S. mansoni* que foram diagnosticados na área endêmica, em apenas 22 (48,88%) foi obtido material adequado para o processamento das amostras e análise dos dados. Isso se deve ao fato das lâminas deste grupo de paciente apresentar uma baixa celularidade para a contagem do número de células inflamatórias de 200 a 400 por lâmina de acordo como descrito na literatura.

A técnica utilizada neste estudo para confecção da lâmina para a contagem diferencial, ainda não foi validada e utilizada em outros estudos. Foi desenvolvida a partir de conhecimentos prévios em trabalhos com citologia nasal quantitativa e adaptada para atividade em campo. Devido às dificuldades em levar uma citocentrífuga para área endêmica a lâmina foi confeccionada a partir do concentrado de células obtidas da centrifugação final do escarro. O uso da técnica não padronizada pode ter sido um possível fator para o baixo número de células neste estudo, embora o fato dos pacientes terem diagnóstico de asma leve poderia também explicar a baixa celularidade do escarro, refletindo uma inflamação brônquica leve.

A indução do escarro em pacientes asmáticos é segura para obtenção de amostras clínicas em crianças e adolescentes. O escarro induzido foi bem aceito pelo grupo em estudo, apesar dos seus desconfortos. Nenhum paciente apresentou broncoespasmo durante a nebulização com a solução hipertônica, sendo um instrumento adequado para uso em campo.

A contagem diferencial indicou a presença de células escamosas (epiteliais) como maior predominância em todas as lâminas, entretanto não foram avaliadas, pois são células predominantes na mucosa brônquica. Depois das células epiteliais os eosinófilos, neutrófilos e macrófagos foram as células inflamatórias predominantes. O fato de ser baixa a celularidade no escarro de asmáticos da área endêmica em esquistossomose e de haver predomínio de eosinófilos pode indicar que a asma é leve e do tipo atópica. O tratamento com praziquantel não alterou significativamente a celularidade do escarro e nem a gravidade da asma. Uma hipótese para explicar estes achados é que os indivíduos não se afastaram da área endêmica e nem do contato com a água contaminada, e que pode ter ocorrido re-infecção pelo *S.mansoni*. Desta forma não foi possível avaliar o real efeito do tratamento da parasitose sobre a gravidade da asma e sobre a celularidade do escarro induzido.

IX. CONCLUSÕES

- A celularidade do escarro induzido foi semelhante entre asmáticos infectados e não infectados pelo *S. mansoni*.
- Houve aumento da celularidade no escarro após o tratamento para *S. mansoni* no grupo Praziquantel, mas sem diferença em relação ao grupo que usou placebo.
- Não foi encontrada uma boa correlação entre a celularidade do escarro e a gravidade da asma, possivelmente devido ao pequeno tamanho amostral do estudo ou ainda a limitação do método, como sugerido por outros autores.

REFERÊNCIAS

- Abbas, A. K., Lichtman, A.H, 2005, Imunologia Celular e Molecular: Rio de Janeiro, Elsevier, 579 p.**
- Abbas, A. K., K. M. Murphy, and A. Sher, 1996, Functional diversity of helper T lymphocytes: Nature, v. 383, p. 787-93.**
- Akbari, O., P. Stock, R. H. DeKruyff, and D. T. Umetsu, 2003, Role of regulatory T cells in allergy and asthma: Curr Opin Immunol, v. 15, p. 627-33.**
- Akdis, C. A., T. Blesken, M. Akdis, B. Wuthrich, and K. Blaser, 1998, Role of interleukin 10 in specific immunotherapy: J Clin Invest, v. 102, p. 98-106.**
- Almeida, M. C. F. d., 2004, Influência do tratamento das helmintíases na gravidade da asma: Tese de Mestrado thesis, Universidade Federal da Bahia, Salvador.**
- Araujo, M. I., O. Bacellar, A. Ribeiro-de-Jesus, and E. M. Carvalho, 1994, The absence of gamma-interferon production of S. mansoni antigens in patients with schistosomiasis: Braz J Med Biol Res, v. 27, p. 1619-25.**
- Araujo, M. I., A. R. de Jesus, O. Bacellar, E. Sabin, E. Pearce, and E. M. Carvalho, 1996, Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis: Eur J Immunol, v. 26, p. 1399-403.**
- Araujo, M. I., B. Hoppe, M. Medeiros, Jr., L. Alcantara, M. C. Almeida, A. Schriefer, R. R. Oliveira, R. Kruschewsky, J. P. Figueiredo, A. A. Cruz, and E. M. Carvalho, 2004, Impaired T Helper 2 Response to Aeroallergen in Helminth-Infected Patients with Asthma: J Infect Dis, v. 190, p. 1797-1803.**
- Araujo, M. I., A. A. Lopes, M. Medeiros, A. A. Cruz, L. Sousa-Atta, D. Sole, and E. M. Carvalho, 2000, Inverse association between skin response to aeroallergens and Schistosoma mansoni infection: Int Arch Allergy Immunol, v. 123, p. 145-8.**
- Asher, M. I., Weiland, S. K., 1998, The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). ISAAC Steering Committee: Clin Exp Allergy, v. 28 Suppl 5, p. 52-66; discussion 90-1.**

- Bartoli, M. L., E. Bacci, S. Carnevali, S. Cianchetti, F. L. Dente, A. Di Franco, D. Giannini, M. Taccola, B. Vagaggini, and P. L. Paggiaro, 2004, Clinical assessment of asthma severity partially corresponds to sputum eosinophilic airway inflammation: *Respir Med*, v. 98, p. 184-93.
- Belda, J., R. Leigh, K. Parameswaran, P. M. O'Byrne, M. R. Sears, and F. E. Hargreave, 2000, Induced sputum cell counts in healthy adults: *Am J Respir Crit Care Med*, v. 161, p. 475-8.
- Bradding, P., A. F. Walls, and S. T. Holgate, 2006, The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma: *J Allergy Clin Immunol*, v. 117, p. 1277-84.
- Bretscher, P. C., M., 1970, A theory of self-nonsel discrimination: *Science*, v. 169, p. 1042-9.
- Brossay, L., M. Chioda, N. Burdin, Y. Koezuka, G. Casorati, P. Dellabona, and M. Kronenberg, 1998, CD1d-mediated recognition of an alpha-galactosylceramide by natural killer T cells is highly conserved through mammalian evolution: *J Exp Med*, v. 188, p. 1521-8.
- Bullens, D. M., A. Decraene, E. Dilissen, I. Meyts, K. De Boeck, L. J. Dupont, and J. L. Ceuppens, 2008, Type III IFN-lambda mRNA expression in sputum of adult and school-aged asthmatics: *Clin Exp Allergy*, v. 38, p. 1459-67.
- Cai, Y., K. Carty, R. L. Henry, and P. G. Gibson, 1998, Persistence of sputum eosinophilia in children with controlled asthma when compared with healthy children: *Eur Respir J*, v. 11, p. 848-53.
- Catapani, W. R., P. L. Pinto, V. Amato-Neto, and E. Mendes, 1997, Prevalence of allergic diseases in patients with schistosomiasis mansoni: *J Allergy Clin Immunol*, v. 100, p. 142.
- Chakir, J., L. Loubaki, M. Laviolette, J. Milot, S. Biardel, L. Jayaram, M. Pizzichini, E. Pizzichini, F. E. Hargreave, P. Nair, and L. P. Boulet, Monitoring sputum eosinophils in mucosal inflammation and remodelling: a pilot study: *Eur Respir J*, v. 35, p. 48-53.
- Chen, Y., V. K. Kuchroo, J. Inobe, D. A. Hafler, and H. L. Weiner, 1994, Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis: *Science*, v. 265, p. 1237-40.

- Cooper, P. J., Ayre, G., Martin C., Rizzo, J. A., Ponte, E. V., Cruz, A. A., et al., 2007, Geohelminth infections: a review of the role of IgE and assessment of potential risks of anti-IgE treatment: *Allergy*, p. 409-417.
- Cooper, P. J., M. E. Chico, M. Bland, G. E. Griffin, and T. B. Nutman, 2003, Allergic symptoms, atopy, and geohelminth infections in a rural area of Ecuador: *Am J Respir Crit Care Med*, v. 168, p. 313-7.
- Cooper, P. J., M. E. Chico, C. Sandoval, and T. B. Nutman, 2004, Atopic phenotype is an important determinant of immunoglobulin E-mediated inflammation and expression of T helper cell type 2 cytokines to ascaris antigens in children exposed to ascariasis: *J Infect Dis*, v. 190, p. 1338-46.
- Costello, R. T., F. Mallet, D. Sainty, D. Maraninchi, J. A. Gastaut, and D. Olive, 1998, Regulation of CD80/B7-1 and CD86/B7-2 molecule expression in human primary acute myeloid leukemia and their role in allogenic immune recognition: *Eur J Immunol*, v. 28, p. 90-103.
- Cottrez, F., S. D. Hurst, R. L. Coffman, and H. Groux, 2000, T regulatory cells 1 inhibit a Th2-specific response in vivo: *J Immunol*, v. 165, p. 4848-53.
- de Jesus, A. M., R. P. Almeida, O. Bacellar, M. I. Araujo, C. Demeure, J. C. Bina, A. J. Dessenin, and E. M. Carvalho, 1993, Correlation between cell-mediated immunity and degree of infection in subjects living in an endemic area of schistosomiasis: *Eur J Immunol*, v. 23, p. 152-8.
- Del Prete, G., M. De Carli, F. Almerigogna, M. G. Giudizi, R. Biagiotti, and S. Romagnani, 1993, Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production: *J Immunol*, v. 150, p. 353-60.
- Dieckmann, D., C. H. Bruett, H. Ploettner, M. B. Lutz, and G. Schuler, 2002, Human CD4(+)CD25(+) regulatory, contact-dependent T cells induce interleukin 10-producing, contact-independent type 1-like regulatory T cells [corrected]: *J Exp Med*, v. 196, p. 247-53.

- Drews, A. C., D. C. Escouto, and R. T. Stein, 2006, The use of induced sputum to evaluate inflammation of the airways in patients with asthma: *Scientia Medica*, v. 16, p. 126-132.
- E. Pizzichini, and A. E. M.M.M. Pizzichini, F.E. Hargreave, J. Dolovich, 1996, Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination: *European Respiratory Journal*, p. 174-180.
- Ebner, C., U. Siemann, B. Bohle, M. Willheim, U. Wiedermann, S. Schenk, F. Klotz, H. Ebner, D. Kraft, and O. Scheiner, 1997, Immunological changes during specific immunotherapy of grass pollen allergy: reduced lymphoproliferative responses to allergen and shift from TH2 to TH1 in T-cell clones specific for Phl p 1, a major grass pollen allergen: *Clin Exp Allergy*, v. 27, p. 1007-15.
- Efthimiadis, A., E. Pizzichini, M. M. M. pizzichini, and F. E. Hargreave, 1997, Sputum Examination for Indices of Airway Inflammation: *Laboratory Procedures*, 31 p.
- Fiorentino, D. F., M. W. Bond, and T. R. Mosmann, 1989, Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones: *J Exp Med*, v. 170, p. 2081-95.
- Foster, P. S., S. P. Hogan, A. J. Ramsay, K. I. Matthaei, and I. G. Young, 1996, Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model: *J Exp Med*, v. 183, p. 195-201.
- Fuhlbrigge, A. L., 2004, Asthma severity and asthma control: symptoms, pulmonary function, and inflammatory markers: *Curr Opin Pulm Med*, v. 10, p. 1-6.
- Gibson, P. G., 1998, Use of induced sputum to examine airway inflammation in childhood asthma: *J Allergy Clin Immunol*, v. 102, p. S100-1.
- Gibson, P. G., J. L. Simpson, R. Hankin, H. Powell, and R. L. Henry, 2003, Relationship between induced sputum eosinophils and the clinical pattern of childhood asthma: *Thorax*, v. 58, p. 116-21.
- Godfrey, R. C., 1975, Asthma and IgE levels in rural and urban communities of The Gambia: *Clin Allergy*, v. 5, p. 201-7.

- Groux, H., 2001, An overview of regulatory T cells: *Microbes Infect*, v. 3, p. 883-9.
- Groux, H., A. O'Garra, M. Bigler, M. Rouleau, S. Antonenko, J. E. de Vries, and M. G. Roncarolo, 1997, A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis: *Nature*, v. 389, p. 737-42.
- Hansen, G., J. J. McIntire, V. P. Yeung, G. Berry, G. J. Thorbecke, L. Chen, R. H. DeKruyff, and D. T. Umetsu, 2000, CD4(+) T helper cells engineered to produce latent TGF-beta1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation: *J Clin Invest*, v. 105, p. 61-70.
- Hirsch, C., Goes, A. M., 1996, Characterization of fractionated *Schistosoma mansoni* soluble adult worm antigens that elicit human cell proliferation and granuloma formation in vitro: *Parasitology*, v. 112 (Pt 6), p. 529-35.
- Hirsch, C., C. S. Zouain, J. B. Alves, and A. M. Goes, 1997, Induction of protective immunity and modulation of granulomatous hypersensitivity in mice using PIII, an anionic fraction of *Schistosoma mansoni* adult worm: *Parasitology*, v. 115 (Pt 1), p. 21-8.
- Hirst, S. J., 2000, Airway smooth muscle as a target in asthma: *Clin Exp Allergy*, v. 30 Suppl 1, p. 54-9.
- Holgate, S. T., 2000, Epithelial damage and response: *Clin Exp Allergy*, v. 30 Suppl 1, p. 37-41.
- Hori, S., T. Nomura, and S. Sakaguchi, 2003, Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3: *Science*, v. 299, p. 1057-61.
- Hotez, P. J., D. A. P. Bundy, K. Beegle, S. Brooker, L. Drake, N. de Silva, A. Montresor, D. Engels, M. Jukes, L. Chitsulo, J. Chow, R. Laxminarayan, C. Michaud, J. Bethony, R. Correa-Oliveira, X. Shuhua, A. Fenwick, and L. Savioli, 2006, Helminth Infections: Soil-transmitted Helminth Infections and Schistosomiasis.
- Hussain, R., R. W. Poindexter, and E. A. Ottesen, 1992, Control of allergic reactivity in human filariasis. Predominant localization of blocking antibody to the IgG4 subclass: *J Immunol*, v. 148, p. 2731-7.

- Jonuleit, H., E. Schmitt, H. Kakirman, M. Stassen, J. Knop, and A. H. Enk, 2002, Infectious tolerance: human CD25(+) regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4(+) T helper cells: *J Exp Med*, v. 196, p. 255-60.
- Katagiri, K., J. Zhang-Hoover, J. S. Mo, J. Stein-Streilein, and J. W. Streilein, 2002, Using tolerance induced via the anterior chamber of the eye to inhibit Th2-dependent pulmonary pathology: *J Immunol*, v. 169, p. 84-9.
- Katz, N., P. M. Coelho, and J. Pellegrino, 1970, Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *Schistosoma mansoni* eggs added to human feces: *J Parasitol*, v. 56, p. 1032-3.
- Kehrl, J. H., L. M. Wakefield, A. B. Roberts, S. Jakowlew, M. Alvarez-Mon, R. Derynck, M. B. Sporn, and A. S. Fauci, 1986, Production of transforming growth factor beta by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth: *J Exp Med*, v. 163, p. 1037-50.
- King, C. L., A. Medhat, I. Malhotra, M. Nafeh, A. Helmy, J. Khaudary, S. Ibrahim, M. El-Sherbiny, S. Zaky, R. J. Stupi, K. Brustoski, M. Shehata, and M. T. Shata, 1996, Cytokine control of parasite-specific anergy in human urinary schistosomiasis. IL-10 modulates lymphocyte reactivity: *J Immunol*, v. 156, p. 4715-21.
- Lafaille, C., M. A., Lafaille, J. J., 2002, CD4(+) regulatory T cells in autoimmunity and allergy: *Curr Opin Immunol*, v. 14, p. 771-8.
- Lee, S. V. S., PIZZICHINI, M. M. M., MARQUES, L. J., FERREIRA, S. C., PIZZICHINI E. , 2003, Airway inflammation in steroid-naïve asthmatics: characteristics of induced sputum: *J Pneumol*, v. 29, p. 188-195.
- Letterio, J. J., Roberts, A. B., 1998, Regulation of immune responses by TGF-beta: *Annu Rev Immunol*, v. 16, p. 137-61.
- Lynch, N. R., I. Hagel, M. Perez, M. C. Di Prisco, R. Lopez, and N. Alvarez, 1993, Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum: *J Allergy Clin Immunol*, v. 92, p. 404-11.
- Lynch, N. R., R. I. Lopez, M. C. Di Prisco-Fuenmayor, I. Hagel, L. Medouze, G. Viana, C. Ortega, and G. Prato, 1987a, Allergic reactivity and

- socio-economic level in a tropical environment: *Clin Allergy*, v. 17, p. 199-207.
- Lynch, N. R., M. Perez, R. I. Lopez, and K. J. Turner, 1987b, Measurement of anti-*Ascaris* IgE antibody levels in tropical allergic patients, using modified ELISA: *Allergol Immunopathol (Madr)*, v. 15, p. 19-24.
- MacDonald, A. S., E. A. Patton, A. C. La Flamme, M. I. Araujo, C. R. Huxtable, B. Bauman, and E. J. Pearce, 2002, Impaired Th2 development and increased mortality during *Schistosoma mansoni* infection in the absence of CD40/CD154 interaction: *J Immunol*, v. 168, p. 4643-9.
- Mandelbrot, D. A., A. J. McAdam, and A. H. Sharpe, 1999, B7-1 or B7-2 is required to produce the lymphoproliferative phenotype in mice lacking cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4): *J Exp Med*, v. 189, p. 435-40.
- Massague, J., S. Cheifetz, M. Laiho, D. A. Ralph, F. M. Weis, and A. Zentella, 1992, Transforming growth factor-beta: *Cancer Surv*, v. 12, p. 81-103.
- Matsuda, J. L., L. Gapin, S. Sidobre, W. C. Kieper, J. T. Tan, R. Ceredig, C. D. Surh, and M. Kronenberg, 2002, Homeostasis of V alpha 14i NKT cells: *Nat Immunol*, v. 3, p. 966-74.
- Medeiros, M., Jr., M. C. Almeida, J. P. Figueiredo, A. M. Atta, C. M. Mendes, M. I. Araujo, E. A. Taketomi, S. A. Terra, D. A. Silva, and E. M. Carvalho, 2004, Low frequency of positive skin tests in asthmatic patients infected with *Schistosoma mansoni* exposed to high levels of mite allergens: *Pediatr Allergy Immunol*, v. 15, p. 142-7.
- Medeiros, M., Jr., J. P. Figueiredo, M. C. Almeida, M. A. Matos, M. I. Araujo, A. A. Cruz, A. M. Atta, M. A. Rego, A. R. de Jesus, E. A. Taketomi, and E. M. Carvalho, 2003, *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma: *J Allergy Clin Immunol*, v. 111, p. 947-51.
- Mehlhof, P. D., M. van de Rijn, J. P. Brewer, A. B. Kisselgof, R. S. Geha, H. C. Oettgen, and T. R. Martin, 2000, CD40L, but not CD40, is required for allergen-induced bronchial hyperresponsiveness in mice: *Am J Respir Cell Mol Biol*, v. 23, p. 646-51.

- Merrett, T. G., J. Merrett, and J. B. Cookson, 1976, Allergy and parasites: the measurement of total and specific IgE levels in urban and rural communities in Rhodesia: Clin Allergy, v. 6, p. 131-4.**
- Palomino, A. L., M. H. Bussamra, B. M. Saraiva-Romanholo, M. A. Martins, P. Nunes Mdo, and J. C. Rodrigues, 2005, [Induced sputum in children and adolescents with asthma: safety, clinical applicability and inflammatory cells aspects in stable patients and during exacerbation]: J Pediatr (Rio J), v. 81, p. 216-24.**
- Pavord, I. D., P. J. Sterk, F. E. Hargreave, J. C. Kips, M. D. Inman, R. Louis, M. M. Pizzichini, E. H. Bel, I. Pin, D. C. Grootendorst, K. Parameswaran, and R. Djukanovic, 2002, Clinical applications of assessment of airway inflammation using induced sputum: Eur Respir J Suppl, v. 37, p. 40s-43s.**
- Pereira, C. A. C., 1996, I CONSENSO BRASILEIRO SOBRE ESPIROMETRIA: J Pneumol, v. 22, p. 107-164.**
- Platts-Mills, T., J. Vaughan, S. Squillace, J. Woodfolk, and R. Sporik, 2001, Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population-based cross-sectional study: Lancet, v. 357, p. 752-6.**
- Ponte, E. V., J. A. Rizzo, and A. A. Cruz, 2007, Interrelationship among asthma, atopy, and helminth infections: J Bras Pneumol, v. 33, p. 335-42.**
- Read, S., Powrie, F., 2001, CD4(+) regulatory T cells: Curr Opin Immunol, v. 13, p. 644-9.**
- Romagnani, S., 1997, Atopic allergy and other hypersensitivities interactions between genetic susceptibility, innocuous and/or microbial antigens and the immune system: Curr Opin Immunol, v. 9, p. 773-5.**
- Romagnoli, M., I. Vachier, P. Tarodo de la Fuente, H. Meziane, C. Chavis, J. Bousquet, P. Godard, and P. Chanez, 2002, Eosinophilic inflammation in sputum of poorly controlled asthmatics: Eur Respir J, v. 20, p. 1370-7.**
- Royer, B., S. Varadaradjalou, P. Saas, J. J. Guillosson, J. P. Kantelip, and M. Arock, 2001, Inhibition of IgE-induced activation of human mast cells by IL-10: Clin Exp Allergy, v. 31, p. 694-704.**

- Rufino, R., C. H. Costa, H. S. Souza, K. Madi, and J. R. Silva, 2007, Induced sputum and peripheral blood cell profile in chronic obstructive pulmonary disease: *J Bras Pneumol*, v. 33, p. 510-8.
- Sakaguchi, S., N. Sakaguchi, M. Asano, M. Itoh, and M. Toda, 1995, Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases: *J Immunol*, v. 155, p. 1151-64.
- Scrivener, S., H. Yemaneberhan, M. Zebeignus, D. Tilahun, S. Girma, S. Ali, P. McElroy, A. Custovic, A. Woodcock, D. Pritchard, A. Venn, and J. Britton, 2001, Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study: *Lancet*, v. 358, p. 1493-9.
- Sher, A., D. Fiorentino, P. Caspar, E. Pearce, and T. Mosmann, 1991, Production of IL-10 by CD4⁺ T lymphocytes correlates with down-regulation of Th1 cytokine synthesis in helminth infection: *J Immunol*, v. 147, p. 2713-6.
- Shimizu, J., S. Yamazaki, T. Takahashi, Y. Ishida, and S. Sakaguchi, 2002, Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance: *Nat Immunol*, v. 3, p. 135-42.
- SILVA, R. M. D., TEIXEIRA, P. J. Z, MOREIRA J. DA S., 2004, Induced sputum for the diagnosis of lung disease in HIV-positive patients: *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, p. 452-458.
- Simpson, J. L., R. Scott, M. J. Boyle, and P. G. Gibson, 2006, Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum: *Respirology*, v. 11, p. 54-61.
- Smith, D. H., D. C. Malone, K. A. Lawson, L. J. Okamoto, C. Battista, and W. B. Saunders, 1997, A national estimate of the economic costs of asthma: *Am J Respir Crit Care Med*, v. 156, p. 787-93.
- Solé, D., J. F. M. Júnior, L. L. M. Weckx, and N. A. R. Filho, 2006, II Consenso Brasileiro sobre Rinites: *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, v. 29, p. 29-58.
- Souza, R. P., 2010, Resposta imune celular em indivíduos com fibrose hepática secundária a esquistossomose mansônica: Dissertação de Mestrado thesis, Univercidade Federal da Bahia, Salvador.

- Sporn, M. B., A. B. Roberts, L. M. Wakefield, and R. K. Assoian, 1986, Transforming growth factor-beta: biological function and chemical structure: *Science*, v. 233, p. 532-4.
- Strachan, D. P., 1989, Hay fever, hygiene, and household size: *Bmj*, v. 299, p. 1259-60.
- Takahashi, T., Y. Kuniyasu, M. Toda, N. Sakaguchi, M. Itoh, M. Iwata, J. Shimizu, and S. Sakaguchi, 1998, Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state: *Int Immunol*, v. 10, p. 1969-80.
- Tisiologia, S. B. d. P. e., 2006, IV Diretrizes Brasileiras para o Manejo da Asma, *Jornal brasileiro de pneumologia*.
- Tonietto, V., V. D. d. Silva, and R. G. Tonietto, 2010, Exame do Escarro, *in* S. B. d. P. e. Tisiologia, ed., *Prática Pneumológica: Rio de Janeiro, Guanabara Koogan LTDA*, p. 141-147.
- Tsuyuki, S., J. Tsuyuki, K. Einsle, M. Kopf, and A. J. Coyle, 1997, Costimulation through B7-2 (CD86) is required for the induction of a lung mucosal T helper cell 2 (TH2) immune response and altered airway responsiveness: *J Exp Med*, v. 185, p. 1671-9.
- Twaddell, S. H., P. G. Gibson, K. Carty, K. L. Woolley, and R. L. Henry, 1996, Assessment of airway inflammation in children with acute asthma using induced sputum: *Eur Respir J*, v. 9, p. 2104-8.
- Umetsu, D. T., O. Akbari, and R. H. Dekruyff, 2003, Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma: *J Allergy Clin Immunol*, v. 112, p. 480-7; quiz 488.
- van den Biggelaar, A. H., R. van Ree, L. C. Rodrigues, B. Lell, A. M. Deelder, P. G. Kremsner, and M. Yazdanbakhsh, 2000, Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10: *Lancet*, v. 356, p. 1723-7.
- Von Ehrenstein, O. S., E. Von Mutius, S. Illi, L. Baumann, O. Bohm, and R. von Kries, 2000, Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers: *Clin Exp Allergy*, v. 30, p. 187-93.
- Wahl, S. M., 1992, Transforming growth factor beta (TGF-beta) in inflammation: a cause and a cure: *J Clin Immunol*, v. 12, p. 61-74.

- Wahl, S. M., 1994, Transforming growth factor beta: the good, the bad, and the ugly: *J Exp Med*, v. 180, p. 1587-90.
- Walunas, T. L., D. J. Lenschow, C. Y. Bakker, P. S. Linsley, G. J. Freeman, J. M. Green, C. B. Thompson, and J. A. Bluestone, 1994, CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation: *Immunity*, v. 1, p. 405-13.
- Weiner, H. L., 1997, Oral tolerance for the treatment of autoimmune diseases: *Annu Rev Med*, v. 48, p. 341-51.
- Wills-Karp, M., 1999, Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness: *Annu Rev Immunol*, v. 17, p. 255-81.
- Wilson, S. B., Delovitch, T. L., 2003, Janus-like role of regulatory iNKT cells in autoimmune disease and tumour immunity: *Nat Rev Immunol*, v. 3, p. 211-22.
- Yemaneberhan, H., Z. Bekele, A. Venn, S. Lewis, E. Parry, and J. Britton, 1997, Prevalence of wheeze and asthma and relation to atopy in urban and rural Ethiopia: *Lancet*, v. 350, p. 85-90.
- Yssel, H., S. Lecart, and J. Pene, 2001, Regulatory T cells and allergic asthma: *Microbes Infect*, v. 3, p. 899-904.
- Zouain, C. S., P. L. Falcao, T. S. Goes, M. F. Leite, and A. M. Goes, 2004, *Schistosoma mansoni* P111 antigen modulates in vitro granuloma formation by regulating CD28, CTLA-4, and CD86 expression in humans: *Immunol Lett*, v. 91, p. 113-8.
- Zouain, C. S., S. Gustavson, S. C. Oliveira, V. Azevedo, J. B. Alves, and A. M. Goes, 2001, The role of IL-10 and IgG1 in the protection and granulomatous response in *Schistosoma mansoni* P24-immunized mice: *Vaccine*, v. 19, p. 11218-24.

ANEXOS

Anexo I

ISAAC

**SERVIÇO DE IMUNOLOGIA
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

NOME : _____ Endereço _____ Número de Inclusão : _____ DATA : ____/____/____ IDADE: _____ DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____ () MASC () FEM. NÍVEL SÓCIO-ECONÔMICO : (RENDA FAMILIAR) <input type="checkbox"/> ATÉ UM SALÁRIO MÍNIMO <input type="checkbox"/> ENTRE 5 E 10 SALÁRIOS MÍNIMOS <input type="checkbox"/> ENTRE 1 E 2 SALÁRIOS MÍNIMOS <input type="checkbox"/> MAIS DE 10 SALÁRIOS MÍNIMOS <input type="checkbox"/> ENTRE 2 E 5 SALÁRIOS MÍNIMOS
--

Quantos habitantes na casa: _____		
Tabagismo	Sim () Não () Quantidade: _____ cigarros / Tempo: ____ () meses () anos	
Outros tabagistas na casa	Sim () Não () Quantos: _____	
Fogão à lenha:	Sim ()	Não ()
Diesel	Grãos	Polens
Sim () Não ()	Sim () Não ()	Sim () Não ()
Outros poluentes	Sim () Não () Quais: _____	

QUESTIONÁRIO I

1. Alguma vez na vida teve chiado no peito ou falta de ar (cansaço)?

Sim Não

caso a resposta seja NÃO, passe para a pergunta numero 6.

2. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve chiado no peito ou falta de ar (cansaço)?

Sim Não

3. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve quantas crises de chiado no peito ou de falta de ar?

nenhuma crise

1 a 3 crises

4 a 12 crises

mais de 12 crises

4. Nos últimos 12 (doze) meses, você acordou a noite com chiado no peito ou com falta de ar?

nenhuma

menos de uma noite por semana

uma ou mais noites por semana

5. Nos últimos 12 (doze) meses, seu chiado no peito ou falta de ar, foi tão forte, a ponto de impedir que você falasse normalmente?

Sim Não

6. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve chiado no peito ou falta de ar, após exercícios físicos?

Sim Não

7. Nos últimos 12 (doze) meses, você tem tido crises de tosse seca, à noite, sem estar gripado ou com infecção respiratória?

Sim Não

QUESTIONÁRIO II

1. Qual a freqüência de suas gripes ou resfriado ?
 uma ou duas por ano.
 uma vez por mês.
 mais de uma vez por mês
2. Alguma vez na vida você teve problema de espirros, coriza (corrimento nasal), coceira ou obstrução nasal, quando não estava resfriado ou gripado ?
 Sim Não
3. Em qual dos últimos 12 (doze) meses este problema ocorreu ?
 Janeiro Maio Setembro
 Fevereiro Junho Outubro
 Março Julho Novembro
 Abril Agosto Dezembro
4. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas vezes suas atividades diárias foram atrapalhadas por esses sintomas nasais (espirros, coriza, coceira ou entupimento) ?
 nenhuma
 pouco (alguns minutos ou poucas horas do dia)
 moderado (uma parte do dia – manhã, tarde ou noite)
 muito (sintomas diários e constantes)
5. Quando você tem contato com poeira, mofo ou cheiro forte, você tem coceira, espirros ou coriza ?
 Sim Não
6. Quando isso acontece você tem coceira nos olhos ou coceira na garganta ?
 Sim Não

QUESTIONÁRIO III

1. Alguma vez na vida você teve irritações ou coceira na pele (eczema), que apareciam e desapareciam por pelo menos, mais de uma vez por ano ?
 Sim Não

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

3. Quando bebê, você apresentava brotoejas ou assaduras de difícil controle em pescoço, bochechas, atrás das orelhas, ou na área das fraldas?
 Sim Não

QUESTIONÁRIO IV

1. Alergia a medicamentos, bebidas ou alimentos ?
 Sim Não Qual: _____

2. Algum familiar direto (PAI, MÃE, IRMÃO, FILHOS, AVÓS OU TIOS) apresenta alguma manifestação alérgica (ASMA, RINITE, URTICÁRIA OU DERMATITE) ?
 Sim Não Qual: _____

3. Nos últimos 15 dias fez uso de algum tipo de medicamento para a sua doença ?
 Sim Não Qual: _____

4. Você tem alguma outra doença que necessita uso de medicamentos ?
 Sim Não Qual: _____

OBSERVAÇÕES A CRITÉRIO DO MÉDICO :

Anexo II

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Questionário para avaliação de gravidade da asma

NOME:		
Nº _____	DATA: ____/____/____	SEXO: () MASC. () FEM.
IDADE: _____.	DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____	

<p>1. Alguma vez na vida você <u>teve piado no peito (cansaço)</u>? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO SE VOCÊ RESPONDEU NÃO, PASSE PARA A QUESTÃO 6.</p>
<p>2. Nos últimos 12 (doze) meses, você <u>teve piado no peito (cansaço)</u>? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>
<p>3. Nos últimos 12 (doze) meses, quantas vezes você teve <u>crises</u> de piado no peito (cansaço)?</p> <p>3.1. <input type="checkbox"/> Nenhuma crise 3.2. <input type="checkbox"/> 1 a 3 crises 3.3. <input type="checkbox"/> 4 a 12 crises 3.4. <input type="checkbox"/> Mais de 12 crises</p>
<p>4. Nos últimos 12 (doze) meses, com que freqüência você teve seu <u>sono perturbado</u> por piado no peito (cansaço)?</p> <p>4.1. <input type="checkbox"/> Nunca acordou por causa de piado no peito (cansaço) 4.2. <input type="checkbox"/> Menos de 1 noite por semana 4.3. <input type="checkbox"/> Uma ou mais noites por semana</p>
<p>5. Nos últimos 12 (doze) meses, seu piado no peito (cansaço) foi tão forte a ponto de impedir que você conseguisse <u>dizer mais de 2 palavras entre cada respiração</u>? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>
<p>6. Alguma vez na vida você já teve <u>asma</u>? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>
<p>7. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve piado no peito (cansaço) após <u>exercícios físicos</u>? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>
<p>8. Nos últimos 12 (doze) meses, você teve <u>tosse seca</u> à noite sem estar gripado ou com infecção respiratória? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO</p>

QUESTIONÁRIO II

<p>21. Que remédio você usa para piado no peito (cansaço)? Resposta (escreva em letra de forma mesmo que não saiba o nome direito)?:</p>
<p>22. Você faz tratamento médico para o piado no peito (cansaço)? () Sim () Não</p>
<p>23. No últimos 12 (doze meses) você precisou usar remédio para piado no peito (cansaço)? () Não, não precisei tomar remédios para piado no peito (cansaço) () Sim, mas muito raramente () Sim, toda semana tive que tomar remédio para piado no peito (cansaço), 1 a 2 vezes por semana () Sim, toda semana tive que tomar remédio para piado no peito (cansaço). mais de 2 vezes por semana</p>
<p>24. Nos últimos 12 (<u>doze</u>) meses você teve de ir ao médico ou (serviço médico) de emergência por causa de piado no peito (cansaço)? () Sim () Não</p>
<p>25. Quantas vezes você acha que foi ao médico de emergência por causa de piado no peito (cansaço) nos últimos 12 (doze) meses? Resposta – Número de vezes: _____</p>
<p>26. Nos últimos 12 (doze) meses você foi alguma vez internado em algum hospital por causa de piado no peito (cansaço)? () Sim () Não</p>
<p>27. Como você acha que está seus casos de piado no peito (cansaço) nos últimos 12 (doze) meses? () A mesma coisa () Piorou () Melhorou</p>
<p>28. Se você respondeu que seu piado no peito (cansaço) piorou ou melhorou, porque você diz isso? Resposta:</p>
<p>29. Se seu piado no peito (cansaço) melhorou nos últimos doze, você acha que o piado no peito (cansaço) melhorou como? () Diminui o número de crises () As crises ficaram mais fracas () não tive mais crises</p>
<p>30. Se você deixou de ter piado no peito (cansaço), qual foi o último ano que você teve? () Parei de ter piado no peito (cansaço) nesse ano de 1999 () Parei de ter piado no peito (cansaço) no ano passado, em 1998 () Parei de ter piado no peito (cansaço) no ano de 1997 () Tem muitos anos que deixei de ter crises, antes de 1997 () Não me lembro/não sei</p>

Anexo III

SERVIÇO DE IMUNOLOGIA
 HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGARD SANTOS
 UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

ALERGODIAGNÓSTICO

RESULTADO DE TESTES CUTÂNEOS A ANTÍGENOS INALAVEIS

Nome : _____ N.º : _____

I		II	
Controle + (Histamina 1/1000)		Controle – (excipiente. Solução.)	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>		<i>Blomia tropicalis</i>	
<i>Dermatophagoides farinae</i>		Fungos anemófilos (mistura)	
<i>Blatella germânica</i>		<i>Periplaneta americana</i>	

COMENTÁRIOS :

DATA : ____ / ____ / ____

Anexo IV



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Augusto Viana, s/r, Canela – Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1.º andar.
Cep: 40.110-160 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3203-2740 e-mail: cepmco@ufba.br homepage: www.cepimco.ufba.br

PARECER/RESOLUÇÃO N.º 042/2009

Registro CEP. 037/09. (Este número, bem como o do Parecer acima devem ser citados nas correspondências referentes a este projeto).

Título do Projeto. “Citologia do escarro induzido em asmáticos infectados pelo *Schistosoma mansoni*.”

Patrocínio/Financiamento. Orçamento de R\$ 24.000,00 (vinte e quatro mil reais), compatível.

Pesquisadora Responsável. Maria Ilma Andrade Santos Araújo, Doutora, Pesquisadora do Serviço de Imunologia da Universidade Federal da Bahia, Professora Adjunto III de Imunologia do Curso de Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, “Currículo Vitae” apenso. Equipe complementar relacionada no Projeto.

Instituição. Serviço de Imunologia, Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, SIM/HUPES/UFBA.

Área do Conhecimento. 4.00, Ciências da Saúde; 4.01, Imunologia; Nível Epidemiológico, E; Grupo III

Objetivos. Avaliar a celularidade do escarro induzido em asmáticos infectados pelo *Schistosoma mansoni* e residentes na área endêmica de Água Preta, município de Gandu-Bahia; avaliar a celularidade do escarro induzido, em especial a eosinofilia, em asmáticos infectados pelo *Schistosoma mansoni* e correlacionar com a gravidade da asma; comparar a celularidade do escarro induzido em asmáticos infectados pelo *Schistosoma mansoni* com não infectados, bem como antes e após tratamento dos mesmos com anti-helmínticos e comparar a celularidade do escarro induzido com a contagem de leucócitos de sangue periférico de asmáticos infectados ou não pelo *Schistosoma mansoni*.

Sumário. Nos últimos anos tem-se buscado marcadores da atividade inflamatória em asmáticos, empregando-se técnicas pouco invasivas como a celularidade do escarro. O escarro induzido, inicialmente utilizado para diagnóstico de câncer de pulmão, é atualmente aceito como um instrumento de investigação da patogenia da asma e de acompanhamento da evolução da inflamação das vias aéreas. A identificação do padrão inflamatório da mucosa tem ajudado no melhor entendimento do processo inflamatório da asma. Trata-se de um estudo prospectivo, randomizado, duplo cego, controlado com placebo, com dois grupos pareados por faixa etária, com um ano de duração. O estudo incluirá 40 (quarenta) indivíduos da área endêmica. Vinte (20) deles serão tratados com Albendazol (400 mg) e Praziquantel (50 mg/Kg) e os outros 20, serão tratados com placebo. O grupo controle será composto por 20 asmáticos sem helmintíase, residentes em Salvador. Os indivíduos selecionados para inclusão no estudo realizarão exame





COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/MCO/UFBA
MATERNIDADE CLIMÉRIO DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
IORG0003460. Assurance FWA00002471, October 26, 2010
IRB00004123, October 5, 2007 - October 4, 2010

Rua Augusto Viana, s/n°, Canela – Hospital Universitário Professor Edgard Santos, 1.º andar.
 Cep: 40.110-160 – Salvador-Bahia telefax: (71) 3203-2740 e-mail: cepmco@ufba.br homepage: www.cepemco.ufba.br

parasitológico de fezes, testes alérgicos, provas de função pulmonar, coleta de escarro induzido. **Critérios de Inclusão:** indivíduos asmáticos com idade entre 05 a 50 anos, asmáticos infectados cronicamente pelo *Schistosoma mansoni* e não infectados (grupo controle). **Critérios de exclusão:** indivíduos com idade inferior a 05 anos e superior a 50 anos; indivíduos que fizeram uso muito recente de medicamentos como anti-histamínicos, beta bloqueadores, entre outros, pela possibilidade de interferência com os testes cutâneos e nos valores da espirometria e indivíduos portadores de dermatoses nas áreas selecionadas para testes cutâneos, mulheres grávidas e aqueles que apresentem alguma condição que não permita estrita colaboração, por ocasião da realização dos exames.

Análise de riscos: Há referência quanto à análise de risco mínimo ao procedimento de retirada de sangue venoso (dor leve e sangramento). O teste alérgico que será utilizado é seguro e raramente uma pessoa pode ter uma piora dos sintomas alérgicos. **Retorno de benefícios para o sujeito e/ou para a comunidade:** Todos os indivíduos portadores de parasitoses intestinais documentadas serão tratados gratuitamente. Os indivíduos que apresentarem asma e/ou rinite serão orientados, com relação a medidas de controle ambiental intra-domiciliar, bem como com referência ao tratamento medicamentoso.

Comentários. O presente estudo conta com o apoio financeiro da Universidade Johns Hopkins, Estados Unidos. O SIM/HUPES cederá estrutura básica para a realização do projeto, pessoal, material para exames laboratoriais e equipamentos de informática dentre outros. Trata-se de uma Pesquisa submetida a este Institucional na forma de “Adendo” ao Projeto intitulado “Efeito do tratamento da esquistosomose sobre as manifestações clínicas e resposta imune da asma”, e homologado através do Parecer/Resolução nº 059/2008 e Aditiva Nº 228/2008 deste Colegiado. A participação no estudo será voluntária e todos assinarão o “**Termo de Consentimento Livre e Pré-Esclarecido**” (TCLPE) redigido em linguagem clara e acessível. Objetivos, procedimentos, participação voluntária, análise de riscos, confidencialidade, gratuidade e formas de contato tanto com o Pesquisador quanto com o Comitê de Ética em Pesquisa estão explicitados. **Protocolo aprovável.** ✓

APROVADO

Salvador, 27 de Maio de 2009


Professor, Doutor Antônio dos Santos Barata
Coordenador – CEP/MCO/UFBA

Observações importantes. Toda a documentação anexa ao Protocolo proposto e rubricada pelo (a) Pesquisador (a), arquivada neste CEP, e também a outra devolvida com a rubrica da Secretária deste (a) ao (à) mesmo (a), faz parte intrínseca deste Parecer/Resolução, bem como as “Recomendações Adicionais” apensas, além da **impostergável entrega de relatórios parciais e final como consta nesta liberação**, (Modelo de Redação para Relatório de Pesquisa, anexo).

Anexo V

SERVIÇO DE IMUNOLOGIA

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. EDGAR SANTOS – UFBA

Rua Augusto Viana, s/n – Canela – CEP 40140.000 – Salvador-BA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAR DO ESTUDO

Nome do Projeto: Efeito do tratamento da esquistossomose sobre as manifestações clínicas e resposta imune da asma

Investigador Principal: Maria Ilma Andrade Santos Araújo, médica, Serviço Imunologia, Hospital Universitário Prof. Edgard Santos – UFBA, Rua João da Botas s/n, Canela, CEP 40.110-160, Salvador-BA.

Nome do Paciente: _____

Convite e Objetivo:

Você está sendo convidado(a) a participar de um estudo para avaliar a associação entre a asma e a infecção por helmintos (verminose).

Caso você aceite participar, em alguns períodos durante um ano, aproximadamente, você fará a exames para saber se tem alergia e verminoses, sendo necessário: responder a um questionário com perguntas sobre alergias, fazer exames clínicos, além de Rx de tórax e coleta de sangue e de fezes. Fará também exame para avaliar a sua capacidade pulmonar e exame de escarro.

Além das informações aqui presentes, você pode perguntar tudo sobre o estudo ao seu médico.

Participação Voluntária:

A sua participação no estudo é voluntária e você estará contribuindo para o melhor entendimento da sua doença. Você é livre para recusar a participar do estudo, ou se retirar em qualquer época após o seu início sem comprometer ou prejudicar a assistência médica que lhe daremos.

Finalidade do estudo:

Este estudo tem a finalidade de avaliar a influência da verminose no desenvolvimento da asma. Especificamente, se o tratamento para verminoses provoca piora da asma.

Procedimentos:

Caso concorde em participar do estudo, você doará 20mL de sangue, em caso de criança e 40 mL de sangue no caso dos adultos, que será coletado por profissional especializado, com o auxílio de seringas e agulhas descartáveis. Em seguida, você fará o teste de alergia que será realizado pela técnica de puntura, feito com o auxílio de puntores descartáveis. O teste por puntura consiste em pingar na face ventral do antebraço da pessoa uma gota da substância que vai ser testada. A seguir faz-se uma puntura (pequena picada na pele sem, porém, provocar sangramento) e, após 20 minutos faz-se a leitura do teste. O exame consistirá de 06 (seis) punturas: 04 (quatro) antígenos diferentes e 02 (dois) controles. Este teste será realizado por profissionais devidamente capacitados. Além disso, serão realizados Rx de tórax e provas de função pulmonar para avaliar se existe alteração pulmonar causada pela asma. Fará também exame do escarro para avaliação do tipo de célula presente na inflamação da asma. Você precisará doar amostras de fezes para que possamos realizar os exames parasitológicos. Você será tratado para verminoses e fará novas avaliações clínicas e os exames descritos acima, no sentido de analisarmos se o tratamento mudou a gravidade da asma.

Duração do Estudo:

Após a assinatura do termo de consentimento, sua participação no estudo terá uma duração máxima prevista de 12 meses.


 Claudinéa Lima dos Santos
 Secretária Executiva
 Comitê de Ética em Pesquisa
 CEPIMCO/UFBA

Confidencialidade:

Qualquer informação obtida durante este estudo será confidencial sendo apenas compartilhada com outros membros da equipe. Os resultados serão divulgados na forma de comunicação científica, não permitindo a identificação individual dos participantes.

Análise dos Riscos e Benefícios:

A retirada de sangue venoso é um procedimento médico de rotina e, em casos raros pode provocar dor leve e sangramento depois da retirada da agulha. Caso isso aconteça, todos os cuidados serão tomados por profissionais devidamente habilitados. Quanto ao teste de alergia, quando uma pessoa tem alergia surge no local um eritema (vermelhidão) e uma pápula (placa) e pode ocorrer prurido (coceira) no local do teste. Esta reação dura, em média 20 a 30 minutos e desaparece espontaneamente, sem deixar cicatrizes, e não há necessidade de se usar qualquer medicamento para o seu desaparecimento. O tipo de teste que vamos realizar é seguro e, raramente, a pessoa pode ter uma piora dos sintomas alérgicos e, se isso ocorrer, será durante o teste e geralmente muito leve. Esses sintomas podem ser rapidamente controlados com o uso de medicamentos, que serão fornecidos gratuitamente.

Retorno dos Benefícios para o Sujeito e para a Sociedade:

Estudos que contribuem para esclarecer como a verminose pode nos proteger contra a asma podem levar ao desenvolvimento de novos tratamentos para alergia.

As pessoas que se submeterem aos exames receberão, se desejarem, os resultados dos mesmos. Você será tratado gratuitamente para parasitas intestinais, e também para a asma, caso haja necessidade. Você receberá orientações de como evitar as verminoses e a asma.

Custos:

Você não terá custos com a participação no estudo e nem receberá pagamento por sua participação.

Esclarecimentos:

Qualquer dúvida que você tenha sobre o que está escrito neste consentimento ou sobre os procedimentos que constam desse projeto de pesquisa, poderá entrar em contato com Dra. Maria Ilma Araujo, coordenadora do projeto, médica do Serviço de Imunologia do HUPES-UFBA, Rua Padre Feijó, s/n, Canela, telefone (071) 3237-7353, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira, na pessoa do Dr. Antônio Barata, situado no Ambulatório Magalhães Neto, 3º andar, UFBA, na rua Padre Feijó, 240 - Canela, telefone (071) 3203-2740.

Consentimento:

Se você leu o consentimento livre e esclarecido ou este lhe foi explicado e você concorda em participar voluntariamente deste estudo, favor assinar o nome abaixo. A você será entregue uma cópia deste formulário.

Local: _____ Data ____ / ____ / ____ e Hora: _____

Assinatura do Participante

RG nº

Local: _____ Data ____ / ____ / ____ e Hora: _____

Assinatura do Pesquisador

RG nº


Claudinéia Lima dos Santos
Secretária Executiva
Comitê de Ética em Pesquisa
CEP/MCO/UFBA