



Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Parasitologia



**Samira Diniz Resende**

**Fatores associados à esquistossomose e à modulação da reatividade alérgica em indivíduos infectados com baixa carga parasitária no norte de Minas Gerais, antes e após um ano de tratamento com Praziquantel**

Belo Horizonte

2021

**Samira Diniz Resende**

**Fatores associados à esquistossomose e à modulação da reatividade alérgica em indivíduos infectados com baixa carga parasitária no norte de Minas Gerais, antes e após um ano de tratamento com Praziquantel**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Área de Concentração: Epidemiologia das doenças infecciosas e parasitárias

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Deborah A. Negrão-Corrêa

Co-orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Mariângela Carneiro

Belo Horizonte

2021

043

Resende, Samira Diniz.

Fatores associados à esquistossomose e à modulação da reatividade alérgica em indivíduos infectados com baixa carga parasitária no norte de Minas Gerais, antes e após um ano de tratamento com Praziquantel [manuscrito] / Samira Diniz Resende. – 2021.

162 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Deborah A. Negrão-Corrêa. Co-orientação: Prof<sup>a</sup>. Dra. Mariângela Carneiro.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Comorbidade. 3. Hipersensibilidade. 4. Helmintos. I. Negrão-Corrêa, Deborah Aparecida. II. Carneiro, Mariângela. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 576.88/.89



## ATA DE DEFESA DE TESE - DOUTORADO

**Samira Diniz Resende**

328/2021/16

entrada

2º/2016

2016751686

Às quatorze horas do dia 26 de novembro do ano de 2021, reuniu-se, por videoconferência, sala <https://conferenciaweb.rnp.br/webconf/samira-diniz-resende-2>, a Comissão Examinadora de Tese, indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia para julgar, em exame final, o trabalho final intitulado: “Fatores associados à esquistossomose e à modulação da reatividade alérgica em indivíduos infectados com baixa carga parasitária no norte de Minas Gerais, antes e após um ano do tratamento com Praziquantel”, área de concentração: Epidemiologia e Controle de Doenças Infecciosas e Parasitárias. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, **Dra. Deborah Aparecida Negrão-Corrêa**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do (a) candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do (a) candidato (a) e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	Indicação
Dra. Deborah Aparecida Negrão-Corrêa	UFMG	Aprovada
Dr. Paulo Marcos Zech Coelho	IRR/FIOCRUZ-MG	Aprovada
Dr. Wendel Coura Vital	UFOP	Aprovada
Dr. David Soeiro Barbosa	UFMG	Aprovada
Dr. Agostinho Gonçalves Viana	Safe Test Diagnósticos/FIOCRUZ	Aprovada
Dra. Mariângela Carneiro	UFMG	Aprovada

**Expedição do resultado final.**

CONSIDERAÇÕES GERAIS – SOBRE TESE APRESENTADA PELO (A) O (A) CANDIDATO (A):

Exigências	
Recomendações	
Sugestões	As sugestões de modificação foram apresentadas e discutidas com o doutorando durante a defesa pública e serão incorporadas na versão final da tese.

Pelas indicações, o (a) candidato(a) foi considerado(a):   Aprovada  

O resultado final foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 26 de novembro de 2021.

**Dra. Deborah Aparecida Negrão-Corrêa**

(Orientadora)

**Dr. Paulo Marcos Zech Coelho****Dr. Wendel Coura Vital****Dr. David Soeiro Barbosa****Dr. Agostinho Gonçalves Viana****Dra. Mariângela Carneiro**

(Coorientadora)

Dedicado aqueles que (ainda) tem a ousadia  
de seguir o caminho da ciência no Brasil!

## AGRADECIMENTOS

À minha família, minha origem e base, que mesmo sem muitos recursos possibilitou minha criação em um ambiente leve, com espaço para desenvolver minha criatividade e principalmente com coragem e liberdade para correr atrás do que quero! Ser criada com valores firmados na simplicidade com certeza são os responsáveis por me trazer até aqui.

Às minhas grandes amigas desse plano terrestre, Thais e Elis, que sem dúvidas foram as pessoas que acompanharam mais de perto meu percurso. À Tata, a maior ouvinte e conselheira desse mundo! À Elis, a mais companheira e protetora que existe! Foi uma honra dividir a Rep. Woodstock com vocês. Obrigada não apenas por possibilitarem esse momento, mas também fazer mais feliz a minha caminhada.

À minha melhor cia dos últimos tempos, Ronaldo! Desde que te conheci sou infinitamente mais feliz e cheia de brilho nos olhos! Poderia escrever outra tese dizendo o quanto você foi importante nessa fase, mas consigo resumir seu companherismo em “ele organizou minhas referências bibliográficas”. Obrigada também ao Bolotildo, nossa fonte inesgotável de ocitocina.

Ao Vini e Vanessa, amigos advindos da fase chamada: “o que o mestrado uniu, nada separa”. Nossa base é sólida e carrego vocês comigo para toda a vida.

Às minhas colegas de trabalho e amigas de vida: Helena e Brenda. Juntas formamos um bom trio de autoajuda contemplando toda a esfera profissional-pessoal-acadêmica. Vocês me inspiram muito mais do que imaginam!

Aos meus colegas de trabalho na gerência de zoonoses - PBH, em especial à gerente Fabi, referência profissional e pessoal para mim. Obrigada por me estimular e consequentemente permitir minha chegada aqui.

Aos meus amigos do Laboratório de Imunologia de Helmintos: Lauris, Mi, Xoão, Gui, Gustavo, Vanessa, Genil e Jefferson! Obrigada pela colaboração, pelos compartilhamentos de ciência, pelo ambiente altamente receptivo que me propiciaram na UFMG. Admiro muito a luta de vocês, cada um de um canto do país, se empenhando em fazer aqui pesquisa de qualidade mesmo com todo caos. Somos ousados, somos resistência!

À minha orientadora Deborah, que há 7 anos aceitou corajosamente uma desconhecida em seu laboratório. Você transformou minha jornada e mudou minhas perspectivas. Minha vida certamente é

dividida em antes e depois de ir trabalhar com você. Sua paciência, didática, sensibilidade e inteligência lhe tornam um ser humano incrível.

À Fernanda, minha colaboradora no trabalho de campo, nos experimentos de bancada, nas análises estatísticas e nos aconselhamentos de vida! Digo que esse trabalho é tão meu quanto seu, pois foi a pessoa a quem mais recorri, e sempre encontrei portas abertas. Fê você é uma grande epidemiologista, e fico o tempo inteiro atrás de você justamente porque quero seguir seus passinhos!

À minha co-orientadora Mariângela, grande referência da epidemiologia com a qual tenho muito orgulho de trabalhar! Sua sabedoria, experiência e profissionalismo foram essenciais para a concretização dessa pesquisa.

Obrigada a todos os profissionais do Programa de pós-graduação em Parasitologia da UFMG, esse cantinho mágico no ICB, que tem as secretárias mais companheiras, o melhor café com pão de queijo, e produtivas conversas informais no corredor. Como fui feliz nesse lugar, nuh!

Também agradeço o apoio financeiro das Agências de Fomento Capes, pela bolsa de doutorado, e da FAPEMIG e CNPq, que através dos Editais PPSUS e doenças negligenciadas – DECIT permitiram a realização deste estudo.

Fazer doutorado foi um sonho que muitas vezes me pareceu totalmente inalcançável, e é com muita dedicação e orgulho que encerro uma das experiências mais transformadoras da minha vida!

*“A vida é dura, só pra quem é mole (...)”*  
Rio Negro e Solimões (2004)



## RESUMO

Helminthos são potentes indutores de mecanismos imunorregulatórios capazes de interferir em processos inflamatórios e doenças alérgicas. Essa resposta modulatória tem sido usada para explicar uma associação inversa entre alergia e helmintoses; sendo esta dependente da espécie do parasito, sua intensidade e cronicidade. Com o intuito de verificar o efeito da carga parasitária e do tratamento com Praziquantel na indução de modulação alérgica, o presente trabalho avaliou características epidemiológicas da infecção por *S. mansoni* em 257 residentes de Brejo do Amparo, Januária-MG e sua associação com reatividade alérgica. Inicialmente (tempo 0 – T0), os residentes responderam um questionário socioeconômico e forneceram amostras de fezes para realização de uma combinação de diagnósticos parasitológicos (Kato-Katz, Helmintex, Gradiente Salino e HPJ) e molecular (qPCR). Amostras de sangue também foram coletadas para realização do hemograma, testes imunológicos e de reatividade alérgica à antígenos de poeira. Os infectados por *S. mansoni* foram tratados e reavaliados para controle de cura após 30 dias, 3 e 6 meses. Após 12 meses (T12) toda população inicial foi convidada a participar da reavaliação parasitológica e imunológica. No T0, 140 indivíduos estavam infectados por *S. mansoni* (54%), com baixa intensidade de carga (mediana = 4), que foi categorizada em  $\leq 12$  ou  $> 12$  OPG. A prevalência da infecção foi semelhante nos diferentes extratos populacionais examinados, o que se justifica pelo fato dos residentes constituírem um grupo bastante homogêneo, sendo igualmente exposta aos fatores de risco. Por outro lado, a intensidade de carga foi menor em indivíduos  $> 40$  anos de idade, que no modelo final apresentaram 5 vezes menos chances de apresentar a infecção mais intensa. Nesta população, 47 (24%) indivíduos apresentaram IgE reativa a alérgenos comuns em poeira doméstica, e a mediana da intensidade da reatividade foi 7UI/mL. A análise multivariada demonstrou que tanto a prevalência quanto a intensidade da infecção por *S. mansoni* foram negativamente associadas com a reatividade alérgica. Entretanto, cargas parasitárias muito baixas ( $\leq 12$  OPG) foram insuficientes para desencadear mecanismos modulatórios, e a relação inversa entre alergia e esquistossomose foi demonstrada somente pacientes com carga parasitária mais elevada ( $\geq 12$  opg), que apresentaram 6 vezes menos chances de desenvolver alergia. A infecção por *S. mansoni*, de uma forma dependente da carga, também foi associada a indução de resposta anti-inflamatória, incluindo maior produção de IL-10 e redução da frequência de respondedores para IL-33 ou TNF- $\alpha$ , perfil associado à diminuição da reatividade alérgica. Após 12 meses do tratamento (T12), 185 indivíduos foram reavaliados, sendo observada uma redução na positividade da esquistossomose para 23% e a um aumento da reatividade alérgica tanto na prevalência (29%) como na intensidade (mediana = 9 UI/mL). O acompanhamento evidenciou a importância da infecção ativa no desenvolvimento de uma resposta regulatória, demonstrando um significativo aumento na intensidade da reatividade alérgica entre aqueles que se trataram e curaram para esquistossomose. A reinfeção pelo helminto e níveis séricos mais elevados de CCL3 também foram associadas a menores chances de apresentar reatividade alérgica, mesmo em baixa carga parasitária. Em conjunto estes dados indicam o efeito modulatório da esquistossomose sob a reatividade alérgica é dependente de infecção ativa, de carga parasitária elevada e/ou reinfeção frequente.

**Palavras-Chave:** Comorbidade, alergia, helmintos, imunoparasitologia.

## ABSTRACT

Helminths and allergies are strong inducers of the Th2 immune response. In schistosomiasis, this response is stimulated by egg antigens and is usually accompanied by induction of regulatory mechanisms, resulting in a modulated chronic infection, whereas in allergic diseases the Th2 response is not modulated. Many epidemiological studies report inverse associations between allergy and helminths; however, this association depends on the species of the parasite, its intensity and chronicity. In order to verify the effect of the parasite load and anthelmintic treatment on the induction of allergic modulation, the present work carried out a population-based study to evaluate epidemiological characteristics of *S. mansoni* infection in residents of Brejo do Amparo, Januária- MG and its association with allergic reactivity. Initially (time 0 – T0), residents answered a socioeconomic questionnaire and provided stool samples to perform a combination of parasitological (Kato-Katz, Helmintex, Saline Gradient and HPJ) and molecular tests for the diagnosis of schistosomiasis, and blood samples for blood count, evaluation of immune response and allergic reactivity to dust antigens. Those infected with *S. mansoni* were treated and reassessed after 30 days, 3 and 6 months to confirm cure, and after 12 months (T12) the entire T0 population was reassessed. At T0, 140 individuals were infected for *S. mansoni* (54%), and the load intensity was low (median = 4), with 108 of them eliminating  $\leq 12$  eggs per gram of feces (OPG). Regarding immunological alterations, it was observed that the frequency of responders to the cytokine IL-17 and the serum concentration of CCL3 were significantly higher among those infected with *S. mansoni*, while those infected with a load  $\leq 12$  OPG had significantly higher serum levels of IL-27. Logistic regression models demonstrated that residents with higher serum levels of IL-17 are about five times more likely to be infected with *S. mansoni*, while individuals aged  $>40$  years are about five times less likely to have the infection more intense. The evaluated population consists of a very homogeneous group, subjected to precarious sanitary and socioeconomic conditions, which has a similar impact on the transmission of schistosomiasis. In this population, 47 (24%) individuals had IgE reactive to common allergens in house dust, and the median intensity of reactivity was 7UI/mL. Multivariate analysis showed that both the prevalence and intensity of *S. mansoni* infection were negatively associated with allergic reactivity. However, very low parasite loads ( $\leq 12$  OPG) were insufficient to trigger modulatory mechanisms, and the inverse relationship between allergy and schistosomiasis was demonstrated only in patients with a higher parasite load ( $\geq 12$  opg), who were 6 times less likely to develop allergy. Infection by *S. mansoni*, in a load-dependent manner, was also associated with induction of an anti-inflammatory response, including increased production of IL-10 and reduced frequency of responders to IL-33 or TNF- $\alpha$ , a profile associated with decreased allergic reactivity. After 12 months of treatment (T12), 185 subjects were reassessed, with a reduction in schistosomiasis positivity to 23% and an increase in allergic reactivity both in prevalence (29%) and intensity (median = 9 IU/mL). Follow-up evidenced the importance of active infection in the development of a regulatory response, demonstrating a significant increase in the intensity of allergic reactivity among those who were treated and cured for schistosomiasis. Helminth reinfection and higher serum levels of CCL3 were also associated with lower chances of having allergic reactivity, even at low parasite load. Together these data indicate that the modulatory effect of schistosomiasis on allergic reactivity is dependent on active infection, high parasite load and/or frequent reinfection.

**Key words:** Comorbidity, allergy, helminths, immunoparasitology.

## Lista de Figuras:

- Figura 1: Ciclo evolutivo de *Schistosoma mansoni*. Esquema ilustrando as diferentes formas evolutivas do desenvolvimento do parasito, tanto no hospedeiro intermediário como no hospedeiro definitivo. FONTE: Carvalho et al., (2008). .....29
- Figura 2: Fluxograma representando as coletas e processamento de amostras de cada etapa do estudo longitudinal realizado na população da comunidade rural de Brejo do Amparo em Januária-MG. Fonte: Elaborado pelo autor. ....42
- Figura 3: Gráfico de radar ilustrando a frequência de respondedores para citocinas IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-5, IL-13 e IL-33 no soro de indivíduos (A) não infectados por *Schistosoma mansoni* (Sm-) ou (B) infectados pelo parasito (Sm+) entre os residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária – MG.....54
- Figura 4: Gráfico de radar ilustrando a frequência de respondedores para citocinas IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-5, IL-13 e IL-33 no soro de indivíduos (A) infectados por *S. mansoni* com baixa carga ( $\leq 12$  OPG) ou (B) infectados pelo parasito com maior carga ( $> 12$  OPG) entre os residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo.....57
- Figura 5: Prevalência e carga parasitária da infecção por *S. mansoni* na população de estudo. A- Frequência da infecção de *S. mansoni* e carga parasitária entre os indivíduos; B- Carga parasitária em indivíduos IgE-reativo e não-reativos. C- Prevalência de infecção por *S. mansoni* por faixa etária; D- Carga parasitária (OPG) por faixa etária. Em B e D os pontos representam o número de ovos eliminados por cada indivíduo e as barras horizontais o valor das medianas. Comparação entre os grupos feito por Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis para múltiplas comparações e o valor de p da comparação foi atribuído. ....66
- Figura 6: Prevalência e intensidade de IgE-reativo contra alérgenos de poeira doméstica entre a população de estudo. A- Frequência e intensidade de IgE-reativo entre os indivíduos; B- Prevalência de IgE-reativo por faixa etária. ....67
- Figura 7: Prevalência e intensidade de IgE-reativo contra alérgenos de poeira doméstica entre a população de estudo. A- Intensidade de IgE-reativo entre indivíduos infectado e não infectados por *S. mansoni*; B- Carga parasitária em indivíduos IgE-reativo e não-reativos; C- Intensidade de IgE-reativo por carga parasitária. Comparação entre os grupos foram feitos por Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis com múltipla comparação e o valor de p da comparação foi atribuído. ....67
- Figura 8: Gráfico de radar mostrando a frequência de respondedores em cada citocina avaliada no soro de indivíduos IgE-não reativo (A) e IgE-reativo (B) para alérgenos de poeira doméstica entre os residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária, MG, Brasil.....70
- Figura 9: Número de eosinófilos circulantes e concentração de IgE total no soro de indivíduos IgE-reativos residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januário, MG, Brasil. A- Número de eosinófilos circulantes em indivíduos IgE-reativos e não reativos. B- Número de eosinófilos circulantes e concentração de IgE total no soro de indivíduos IgE-reativos residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januário, MG, Brasil. A- Número de eosinófilos circulantes em indivíduos IgE-reativos e não reativos. B- Concentração sérica de IgE total em indivíduos IgE-reativo e não reativo para alérgenos de poeira doméstica. Teste Mann-Whitney. Valor das medianas estão representados pelas barras horizontais;  $p < 0.05$ .....71
- Figura 10: Fluxograma com o n° de participantes e suas respectivas amostras no seguimento do estudo em Brejo do Amparo, Januária-MG.....79

Figura 11: Distribuição da carga parasitária entre os infectados por <i>S. mansoni</i> (n=55) um ano após tratamento no Distrito Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	80
Figura 12: Prevalência e intensidade da reatividade alérgica em indivíduos de diferente faixa etária e gênero dentre os residentes de Brejo do Amparo avaliados após um ano do tratamento com Praziquantel. Comparação entre 2 grupos feito por Mann-Whitney (A) e Kruskal-Wallis foi utilizado para múltiplas comparações (B).....	83
Figura 13: Intensidade da reatividade alérgica em indivíduos não infectados e infectados com <i>S. mansoni</i> entre os residentes de Brejo do Amparo, 12 meses após o tratamento com Praziquantel. Comparação entre 2 grupos feito por Mann-Whitney. ....	85
Figura 14: Relação da intensidade de reatividade de IgE para alérgenos de poeira e infecção por <i>S. mansoni</i> na população de Brejo do Amparo, Januária-MG após um ano do tratamento com Praziquantel. Comparação entre 2 grupos feito por Mann-Whitney (A) e Kruskal-Wallis foi utilizado para múltiplas comparações (B - C).....	87
Figura 15: Relação entre reatividade alérgica e infecção por <i>S. mansoni</i> antes e após um ano do tratamento com Praziquantel na população de Brejo do Amparo, Januária MG: A- Todos os participantes do estudo foram comparados quanto a reatividade ao IgE específico. B- Apenas indivíduos que permaneceram negativos para <i>S. mansoni</i> durante todo período avaliado tiveram a reatividade ao IgE específico comparado. C- Indivíduos positivos para <i>S. mansoni</i> que após tratamento negativaram no T12. Comparação entre grupos feita por Mann-Whitney. ....	89

## Lista de Tabelas:

Tabela 1: Caracterização demográfica e socioeconômica de residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária MG, Brasil. ....	50
Tabela 2: Status de infecção parasitária estabelecida pela combinação de testes de diagnósticos, em residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária MG, Brasil.....	51
Tabela 3: Relação de fatores socioeconômicos, demográficos e de coinfeção com a infecção por <i>S. mansoni</i> em residentes do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais. ....	52
Tabela 4: Prevalência de infecção por <i>S. mansoni</i> e moduladores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	53
Tabela 5: Relação entre a prevalência de infecção de <i>S. mansoni</i> , seus mediadores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	54
Tabela 6: Relação entre a prevalência de infecção de <i>S. mansoni</i> e seus dados hematológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	55
Tabela 7: Modelo multivariado de regressão logística para associação entre prevalência de infecção por <i>S. mansoni</i> e mediadores imunológicos.....	55
Tabela 8: Relação entre intensidade de carga parasitária para <i>S. mansoni</i> e moduladores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	56
Tabela 9: Relação entre intensidade de carga parasitária de <i>S. mansoni</i> e seus mediadores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	57
Tabela 10: Relação entre intensidade de carga parasitária de <i>S. mansoni</i> e seus dados hematológicas na população de Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	58
Tabela 11: Modelo multivariado de regressão logística para associação entre intensidade de carga categorizada em $\leq 12$ ou $> 12$ OPG em infectados por <i>Schistosoma mansoni</i> .....	58
Tabela 12: Frequência (n e %) de níveis detectáveis de citocinas no soro de indivíduos IgE-reativos ou não-reativos contra alérgenos de poeira doméstica. ....	69
Tabela 13: Concentração de citocinas (pg/ml) no soro de indivíduos com IgE-reativo e não reativo contra alérgenos de poeira doméstica em indivíduos da população de estudo. ....	70
Tabela 14: Modelo multivariada de regressão logística para associação entre reatividade alérgica, infecção por <i>Schistosoma mansoni</i> e mediadores imunológicos. ....	72
Tabela 15: Modelo multivariado de regressão logística para associação entre reatividade alérgica, intensidade de carga parasitária para <i>Schistosoma mansoni</i> e mediadores imunológicos.....	72
Tabela 16: Infecção para <i>Schistosoma mansoni</i> quanto à gênero e faixa etária na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG, após um ano de tratamento. ....	80
Tabela 17: Relação entre infecção por <i>S. mansoni</i> e seus mediadores imunológicos na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	81
Tabela 18: Infecção por <i>S. mansoni</i> e frequência de respondedores para mediadores imunológicos um ano após tratamento na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.....	82
Tabela 19: Frequência da reatividade alérgica em residentes de Brejo do Amparo após o tratamento com Praziquantel.....	82
Tabela 20: Frequência da reatividade para alérgenos de poeira quanto à gênero e faixa etária um ano após tratamento na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	83

Tabela 21: Relação entre a reatividade alérgica, seus mediadores imunológicos e dados laboratoriais após um ano de tratamento com Praziquantel na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG. ....	84
Tabela 22: Perfil de resposta imune em indivíduos reativos e não reativos à alérgenos de poeira na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.....	84
Tabela 23: Relação da prevalência de reatividade de IgE para alérgenos de poeira e infecção por <i>S. mansoni</i> na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.....	85
Tabela 24: Status de infecção por <i>S. mansoni</i> após um ano do tratamento com Praziquantel na população de Brejo do Amparo, Januária MG.....	86
Tabela 25: Frequência de reatividade alérgica após um ano do tratamento com Praziquantel nos indivíduos com diferentes status de infecção por <i>S. mansoni</i> na população de Brejo do Amparo, Januária MG.....	86
Tabela 26: Modelo multivariado de regressão logística para associação entre reatividade alérgica, infecção por <i>Schistosoma mansoni</i> e mediadores imunológicos no T12.....	88

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA - Análise de Variância

BSA - Albumina de Soro Bovino

COEP – Comitê de Ética e Pesquisa

ELISA – Ensaio imunoenzimático

IC – Intervalo de Confiança

ICB – Instituto de Ciências Biológicas

ISAAC - *International Study of Asthma and Allergies in Childhood*

Ig – Imunoglobulina

IL – Interleucinas

IL1RL1- IL-1 receptor-like 1

INF- $\gamma$  – Interferon gama

IQ – Intervalo interquartil

ng/ml – Nanograma por mililitro

NA – Não se aplica

OPG – Ovos por grama de fezes

Odds – Odds Ratio

PBS – Salina tamponada “*phosphate buffered saline*”

PCE – Programa de Controle da Esquistossomose

pg/ml – picogramas por mililitro

TGF- $\beta$ - Fator de transformação de crescimento

Th 1 - Resposta imune do tipo 1

Th17- Resposta imune do tipo 17

Th2 – Resposta imune do tipo 2

TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa

Treg- Células TCD4+designadas reguladoras

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UI/ml – Unidades Internacionais por mililitro

WHO- Organização Mundial de Saúde

$\mu$ l – Microlitros

## Sumário

1. Introdução .....	19
2. Revisão Bibliográfica.....	23
2.1 Aspectos gerais da Esquistossomose e seus agentes etiológicos .....	23
2.2 Esquistossomose no Brasil .....	26
2.3 Ciclo de vida.....	28
2.4 Resposta imune e patologia associada a esquistossomose .....	29
2.5 Doenças alérgicas .....	32
2.6 Doenças alérgicas e helmintos .....	34
3. Justificativa .....	37
4. Objetivo Geral:.....	39
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	39
5. Materiais e metodos .....	40
5.1 Considerações éticas .....	40
5.2 População de estudo e Desenho experimental .....	40
5.3 Análises Parasitológicas .....	42
5.4 Extração de DNA e qPCR.....	44
5.5 Dignóstico de esquistossomose e determinação de carga parasitária: .....	45
5.6 Concentração sérica de IgE Total: .....	45
5.7 Reatividade de IgE para alérgenos de poeira doméstica: .....	46
5.8 Análise de citocinas e quimiocinas: .....	47
5.9 Processamento e análise de dados:.....	47
RESULTADOS: .....	48
6. CAPÍTULO 1 .....	49
6.1 Caracterização da população de estudo.....	50
6.2 Perfil socioeconômico e demográfico dos indivíduos infectados por <i>S. mansoni</i> entre residentes da comunidade de Brejo do Amparo:.....	51
6.3. Possíveis associações entre a presença de infecção por <i>S. mansoni</i> e as alterações imunológicas detectadas em residentes da comunidade de Brejo do Amparo .....	52
6.4 Análise multivariada final de Regressão Logística – Evento: Presença da infecção de <i>S. mansoni</i> .....	55
6.5. Possíveis associações entre a intensidade da infecção e alterações imunológicas em indivíduos infectados por <i>S. mansoni</i> na comunidade de Brejo do Amparo .....	56
6.6 Intensidade de infecção por <i>S. mansoni</i> e avaliação de níveis séricos detectáveis de mediadores imunológicos e hematológicos: .....	57



6.7	Análise de Regressão Logística para a intensidade de carga parasitária em infectados para <i>S. mansoni</i> .....	58
6.8	Discussão .....	59
7	- CAPÍTULO 2 .....	64
7.1	Infecção por <i>Schistosoma mansoni</i> e reatividade do IgE para alérgenos de poeira doméstica nos residentes de Brejo do Amparo .....	66
7.2	Perfil de resposta imune dos indivíduos reativos a antígenos da poeira .....	68
7.3	Modelos de regressão multivariada.....	71
7.4	Discussão.....	72
8.	Capítulo 3.....	78
8.1	Prevalência e intensidade da infecção por <i>S. mansoni</i> após um ano de tratamento com Praziquantel (T12).....	79
8.2	Infecção por <i>S. mansoni</i> e mediadores imunológicos nos residentes de Brejo do Amparo, um ano após o tratamento com Praziquantel (T12) .....	81
8.3	Reatividade de IgE à alérgenos frequentes em poeira doméstica e nos residentes de Brejo do Amparo, um ano após tratamento com Praziquantel.....	82
8.4	Parâmetros da resposta imune em indivíduos reativos a alérgenos da poeira nos residentes de Brejo do Amparo, um ano após tratamento com Praziquantel.....	83
8.5	Reatividade alérgica e infecção por <i>S. mansoni</i> .....	85
8.6	Reatividade alérgica e intensidade de carga de <i>S. mansoni</i> .....	86
8.7	Análise multivariada final de Regressão Logística – Evento: Reatividade ao IgE específico...87	
8.8	Acompanhamento pareado da intensidade de reatividade alérgica versus a infecção por <i>S. mansoni</i> após um ano de tratamento. ....	88
8.9	Discussão.....	89
9.	Considerações gerais.....	92
10.	Referências Bibliográficas .....	94
11.	Anexos .....	117
	ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	117
	ANEXO 2 – Parecer Consubstanciado do CEP .....	126
	ANEXO 3 – Questionário familiar .....	129
	ANEXO 4 – Questionário Socioeconômico .....	134
APÊNDICE 1	– Saídas das análises Multivariadas .....	143
	Análises – Capítulo 1 .....	143
	Cap1: Presença de Infecção por <i>S. mansoni</i> .....	143
	Cap. 1: Intensidade de infecção por <i>S. mansoni</i> .....	145

Análises – Capítulo 2: .....	152
Reatividade Alérgica x Presença de <i>S. mansoni</i> .....	152
Cap 2. Reatividade Alérgica x Intensidade de <i>S. mansoni</i> .....	153
Análises – Capítulo 3 .....	158
Status de infecção por <i>S. mansoni</i> .....	158
Apêndice 2 – Artigos publicados .....	161
Apêndice 3 – Artigos EM COLABORAÇÃO .....	164

## 1. INTRODUÇÃO

Descrita por Theodor Bilharz no Egito, em 1851, a esquistossomose (bilharzia) é uma doença tropical negligenciada causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*, atualmente responsáveis por infectar mais de 250 milhões de pessoas em todo o mundo (Gahi, 2018, McManus et al., 2018, WHO, 2018). Entretanto, a utilização de técnicas diagnósticas mais sensíveis para detectar esta infecção tem revelado que a prevalência global da esquistossomose excede as estimativas atuais (Colley et al., 2017). As reinfecções também são comuns em regiões endêmicas, iniciando logo na primeira infância (Colley et al., 2014, Deslyper et al., 2019). Após essas infecções precoces, a carga de vermes vai diminuindo com o aumento da exposição ao parasita, que supostamente aumenta a imunidade protetora em resposta à antígenos que são expostos com a morte de vermes mais velhos (McManus et al., 2018).

Os dados indicam que a intensidade da infecção seja um dos principais fatores que contribuem para a gravidade da esquistossomose; desta forma, a meta da Organização Mundial de Saúde (OMS) de eliminar a esquistossomose como problema de saúde pública para o ano de 2030 tem como estratégia a redução da prevalência de alta intensidade de infecção em crianças em idade escolar para menos de 1%. (WHO 2012, WHO 2016). Tal meta tem sido duramente afetada pela descontinuidade de inúmeros programas de saúde e de controle de doenças infecciosas, devido a urgências provocadas pela pandemia de COVID-19. Esta situação tem gerado preocupações sobre as abordagens de saúde pública, atrasos e deficiências no manejo clínico de pacientes com doenças negligenciadas, principalmente em áreas endêmicas sustentadas por desigualdades sociais. (Tilli et al., 2020, Toor et al., 2020).

A maioria das pessoas com esquistossomose vive nas regiões endêmicas da África, mas infecções causadas por espécies de *Schistosoma* também são predominantes no Oriente Médio, Caribe, América do Sul e Sudeste Asiático. As principais espécies patogênicas causadoras de esquistossomose intestinal humana são *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum* e *S. guineensis*. A morbidade crônica é a principal preocupação de saúde com a infecção pelo parasito (Bizimana et al., 2019, Morales-Suarez-Varela et al., 2019).

No Brasil, a esquistossomose é causada exclusivamente por *S. mansoni* e afeta cerca de 1,8 milhões de pessoas que vivem principalmente no Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia e região litorânea dos outros Estados Nordestinos (Noya et al., 2015, Katz 2018). O homem se infecta através da penetração ativa das cercarias, fase larval do parasito que é eliminada para o meio aquático por

moluscos susceptíveis infectados pertencentes ao gênero *Biomphalaria*, através da pele ou mucosas expostas. Após migração dos esquistossômulos pela circulação, os vermes adultos se desenvolvem nas veias do sistema porta-hepático e migram acasalados para as veias mesentéricas inferiores onde liberam poucas centenas de ovos. Estima-se que somente cerca de 40-50% dos ovos eliminados na circulação atravessam o endotélio vascular, a mucosa intestinal e são eliminados pelas fezes do hospedeiro; o restante dos ovos do parasito fica retido no intestino ou são carregados para outros órgãos, especialmente fígado, induzindo a formação de granulomas, resposta celular aos antígenos liberados pelos ovos do parasito retidos no tecido, responsável por grande parte da patologia intestinal e hepática associada à esquistossomose (Andrade & Prata 1963, Andrade 2008, WHO 2018).

A relação de *S. mansoni* e o homem é historicamente bem-sucedida, resultado de mais de 200.000 anos de co-evolução (Crellen et al., 2016). Desta forma, a esquistossomose evoluiu para uma infecção crônica com sintomatologia leve ou inexistente em mais de 90% dos indivíduos infectados. Entretanto, indivíduos infectados podem desenvolver fibrose hepática, hepatoesplenomegalia e hipertensão portal (Colley et al., 2014, Ross et al., 2012, McManus et al., 2020). A gravidade da morbidade dessa doença está relacionada com a intensidade da infecção, o tempo de exposição ao parasito e/ou frequência de reinfecções, estado nutricional e co-morbidades do hospedeiro. Outro fator determinante na morbidade da esquistossomose é o tipo e intensidade da resposta imunológica do hospedeiro à infecção (Hiatt et al. 1980; Deslyper et al., 2019, McManus et al., 2020).

A interação entre *S. mansoni* e o sistema imunológico do hospedeiro humano é altamente complexa, alterando no decorrer do desenvolvimento parasitário. Durante a migração dos esquistossômulos e maturação dos vermes adultos ocorre indução de uma resposta imune de perfil T-helper 1 (Th1) (Pearce et al. 1991), caracterizada pela produção de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- $\gamma$ , interleucinas 2 (IL-2), IL-1, IL-12, IL-6, e TNF- $\alpha$  (Pearce & MacDonald 2002; Wilson et al. 2007, McManus et al, 2020). A expulsão dos ovos de *Schistosoma* depende de processos conduzidos pelo hospedeiro, o que não garante seu sucesso (Constain et al., 2018). Grande parte dos ovos depositados não chegam ao intestino, e são levados pela circulação ao fígado, onde induzem uma forte inflamação granulomatosa. Com o início da ovipostura, antígeno excreto-secretados pelos ovos induzem uma mudança no perfil das citocinas circulantes para uma resposta de tipo 2, caracterizada pela infiltração e ativação de macrófagos alternativamente ativados (MAA), eosinófilos e células Th2, com proliferação adicional de fibroblastos, formação e deposição de matriz extracelular (Pearce et al. 1991; Hams et al., 2013). A resposta imune induzida por antígenos do ovo é a principal responsável pela patologia da esquistossomose, enquanto a resposta às cercárias e possivelmente alguns dos outros estágios de maturação do verme, são provavelmente importantes para o desenvolvimento de resistência à reinfecção (McManus et al, 2018). A resposta imune protetora para esquistossomose se desenvolve

lentamente em residentes de áreas endêmicas (Gryssels et al., 2006, McManus et al, 2018). Assim, os adultos em áreas endêmicas são, geralmente, mais resistentes à reinfeção após o tratamento e, quando infectados, apresentam baixas cargas parasitárias, enquanto as crianças com menos de 10 anos de idade são mais suscetíveis, o que fornece uma explicação para as curvas de prevalência-idade ou intensidade-idade tipicamente registradas para indivíduos em áreas endêmicas da esquistossomose (McManus et al, 2018; McManus et al., 2020).

Apesar da esquistossomose ser predominantemente caracterizada por uma resposta imune de tipo 2, antígenos do parasito também estimulam uma rede de mecanismos regulatórios com produção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- $\beta$ , capazes de modular a resposta imune do hospedeiro e facilitar a sobrevivência do parasita (Palm et al., 2012; Gause et al., 2013; Schmiedel et al., 2015; Sawant et al., 2014; McSorley et al., 2018). Publicações anteriores indicam que os mecanismos regulatórios induzidos por helmintos também podem modular outros processos inflamatórios e, conseqüentemente reduzir a gravidade de doenças inflamatórias, tais como alergias (Cooper et al., 2003; Alcântara-Neves et al., 2012; Lynch e Boushey 2016; Maizels et al., 2016).

Alergias são doenças crônicas caracterizadas por uma intensa e exacerbada inflamação de tipo 2, induzida pela expressão aumentada das citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 em resposta para exposição ao alérgeno, que resulta em eosinofilia, ativação de mastócitos, produção elevada da imunoglobulina (Ig)E e de muco (Romagnani et al., 2004; Pulendran e Artis 2012; Robinson et al., 2017). Inflamações alérgicas são doenças poligênicas multifatoriais, consequência de uma combinação entre predisposição genética e exposição ambiental (Matricardi et al., 1998; Gale 2002, Agache et al., 2020, Bumbacea et al., 2020). As doenças alérgicas podem afetar diferentes partes do corpo resultando em manifestações clínicas tais como asma, eczema, rinite, febre do feno e alergias alimentares (Von Mutius 2012; Burbank et al., 2017; Lambrecht e Hammad 2017). A prevalência e gravidade dessas manifestações alérgicas tem aumentado muito na população humana após a segunda metade do século XX, especialmente entre pessoas vivendo em áreas urbanas de países desenvolvidos (Heinrich et al., 1998; Alcântara-Neves et al., 2010). A predisposição genética tem sido, por si só, insuficiente para explicar o rápido e heterogêneo aumento de alergias na população humana, sugerindo que fatores ambientais como poluição do ar, dieta e exposição a doenças infecciosas podem ter um importante papel no aumento desse risco (Strachan 1989; Yazdanbakhsh et al., 2002; Maizels et al., 2016; Schröder et al., 2017).

Dados de modelos experimentais (Summers et al., 2005; Buck et al., 2014; McSorley et al., 2015) e estudos epidemiológicos (Van Den Biggelaar et al., 2000; Dagoye et al., 2003; Smits et al., 2003; Stein et al., 2016) indicam que helmintoses crônicas podem modular o estabelecimento e a intensidade de doenças alérgicas. No entanto, uma associação inversa entre alergias e infecção por

helminthos não é sempre detectada e esta relação precisa ser melhor esclarecida. Um estudo transversal desenvolvido em Uganda com residentes de uma comunidade de pescadores de área com alta prevalência de esquistossomose e de helmintoses transmitidas pelo solo, revelaram que indivíduos com infecções helmínticas, especialmente *S. mansoni* e *Trichuris trichiura*, foram mais propensos para atopias (Webb et al., 2016). Por outro lado, uma meta-análise incluindo 33 estudos epidemiológicos, não revelou associação entre infecção por nematódeos e o risco de desenvolvimento da asma (Leonardi-Bee et al., 2006). Em análises espécie-específica, o mesmo estudo mostrou que a infecção por *Ascaris lumbricoides* foi associada com um aumento do risco de asma, enquanto que a infecção por Ancilostomídeo conduz a uma significativa redução de asma, de uma forma dependente de carga (Leonardi-Bee et al., 2006). Adicionalmente, Hunninghake et al. (2007) observou que a sensibilização para *A. lumbricoides* foi associada com um aumento da gravidade e morbidade de asma entre crianças da Costa Rica. Uma explicação sugerida para a associação positiva entre a infecção por *Ascaris* ou *Toxocara* e o risco de asma é a presença de alto grau de reatividade imunológica cruzada entre antígenos de vermes e alérgenos do meio ambiente que podem aumentar a indução de Th2 (Cooper 2008). Dessa forma, o efeito da infecção helmíntica nas doenças alérgicas é complexo e ainda pouco compreendido, sendo que o efeito modulatório da infecção pode ser influenciado por múltiplos fatores, incluindo a espécie do helminto, tempo de infecção no hospedeiro, carga parasitária, local e cronicidade da infecção (Cooper et al., 2006; Smits e Yazdanbakhsh 2007; McSorley e Maizels 2017).

Outro importante aspecto a ser considerado é que a maioria dos estudos epidemiológicos que demonstraram uma associação inversa entre infecções helmínticas e alergias foram desenvolvidos em populações cronicamente expostas a infecções com alta carga parasitária. Nos últimos anos, entretanto, as melhorias no saneamento básico, assistência médica em áreas urbanas de países em desenvolvimento e múltiplos esforços para controlar infecções helmínticas, incluindo a esquistossomose, tem conduzido para uma redução na carga parasitária em muitas áreas em torno do mundo (Ruas et al., 2013; Coelho et al., 2016; WHO 2018). Apesar disso, o efeito desse novo cenário epidemiológico da esquistossomose na indução de uma resposta modulatória ainda não foi avaliado. Para melhor entendimento dos efeitos da esquistossomose no desenvolvimento de doenças alérgicas nesse novo contexto, o presente estudo visa avaliar a relação entre infecção por *S. mansoni*, reatividade de IgE específico para alérgenos comumente encontrados em poeira doméstica, e níveis circulantes de mediadores imunológicos em indivíduos residentes em uma comunidade rural endêmica para esquistossomose, onde os indivíduos apresentam baixa carga parasitária. Outro ponto a ser avaliado no estudo são possíveis alterações no perfil de reatividade alérgica desta população um ano após o tratamento dos indivíduos infectados com praziquantel.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aspectos gerais da Esquistossomose e seus agentes etiológicos

A Esquistossomose faz parte do grupo das doenças tropicais negligenciadas (DTNs), um diversificado conjunto de doenças com uma similaridade peculiar: seu grande impacto sobre as populações mais carentes. Juntas estas doenças afetam mais de 1 bilhão de pessoas com consequências não apenas prejudiciais para a saúde, mas também sociais e econômicas (Nepal et al., 2019, WHO 2020). Causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*, a esquistossomose é uma infecção parasitária crônica, infectando mais de 250 milhões de pessoas em todo o mundo (McManus et al., 2018).

As espécies do gênero *Schistosoma* são dioicas e vivem na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado (Gryseels, 2012; WHO, 2016). Atualmente existem seis espécies de grande importância epidemiológica que são responsáveis pelas infecções em humanos de 78 países da África, Américas, Oriente Médio e Sudeste Asiático (Colley et al. 2014; Organização Mundial de Saúde, 2015). As principais espécies patogênicas causadoras de esquistossomose humana são *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*. Nas Américas, a única espécie encontrada em áreas endêmicas é *S. mansoni* (Organização Pan-Americana da Saúde, 2014; Coelho et al., 2015), sendo estimado que, somente no Brasil, 25 milhões de pessoas residam em áreas de risco de infecção deste trematóde (Pan American Health Organization, 2009)

Uma característica epidemiológica da esquistossomose é sua distribuição focal, ou seja, prevalência e intensidade de infecção são altamente variáveis, mesmo dentro de uma pequena área, de uma aldeia para outra. Essa característica é governada pela interação entre moluscos hospedeiros e contato humano com a água contaminada, configurando uma distribuição populacional dispersa, com maiores taxas de infecção em crianças (Francisco et al., 2019).

Precariedade de saneamento e higiene e falta de acesso à água limpa associados a atividades que envolvam contato com a água, sejam domésticas, recreativas ou ocupacionais, colocam a população em risco de infecção por espécies do gênero *Schistosoma* quando expostos a corpos d'água contaminados (Grimes et al., 2014, McManus et al., 2018). Essa epidemiologia complexa da esquistossomose, bem como a influência da pobreza em áreas endêmicas, exige uma abordagem integrada e multissetorial para o controle da doença (McManus et al., 2020).

Diversos estudos têm sido realizados para determinar o papel dos fatores de risco ambientais, na tentativa de encontrar padrões e heterogeneidade geográfica no risco de infecção pela esquistossomose (McManus et al., 2018). A aplicação de sistemas de informações e tecnologias de

sensoriamento remoto associados a trabalhos de base populacional tem sido muito utilizados para determinar essas características, permitindo uma exibição e previsão mais precisa da prevalência e intensidade da doença (Lai et al., 2015, Walz et al., 2015). Em conjunto, todos esses estudos permitem traçar um perfil de risco em diferentes escalas de análise, seja dentro de uma única vila ou em níveis distritais, nacionais e até continentais para a infecção, propiciando assim melhores estimativas para as necessidades de tratamento (Lai et al., 2015, Simoonga et al., 2009, Schur et al., 2012).

Estudo realizado por Exum et al. (2019) em Uganda determinou que o fator de risco mais significativo para a esquistossomose na área foi os comportamentos dos indivíduos de defecação a céu aberto e em corpos d'água. Os programas de intervenção desempenham um papel crítico na prevenção e controle ou eliminação bem-sucedida da esquistossomose. As três abordagens-chaves mais indicadas incluem melhorias no saneamento, administração de medicamentos em massa e educação em saúde (Bundy et al., 2018, Campbell et al., 2018). Outras intervenções para prevenção de infecções incluem acesso a água potável, saneamento básico e a promoção de práticas de higiene (Raso et al., 2018, Clarke et al., 2018, Pabalan et al., 2018, Salam et al., 2018, Sacolo-Gwebu et al., 2019).

O ciclo de transmissão é perpetuado quando a infraestrutura de saneamento não captura adequadamente fezes infectadas e os corpos d'água com moluscos hospedeiros são contaminados (Deol et al., 2019, Exum et al., 2019). Essas condições propiciam casos de reinfecção e quadros de infecções precoces, comuns em regiões endêmicas, (Colley et al., 2014, McManus et al., 2018, Deslyper et al., 2019). A esquistossomose tem sido associada a déficits de memória e déficit cognitivo e existe uma preocupação particular com as crianças por serem mais vulneráveis à alta carga parasitária (Arminder et al., 2019, Exum et al., 2019). O tipo de alteração e a gravidade da morbidade está relacionada ao tempo de infecção, diferindo quanto aos sintomas e consequências clínicas em diferentes momentos da infecção, mas principalmente a carga parasitária, sendo especialmente pronunciada em infecções de alta intensidade de carga parasitária (Ross et al., 2002, Gryseels et al., 2006, Colley et al., 2014, McManus et al., 2018, McManus et al., 2020).

O controle da morbidade associada à esquistossomose e sua eventual eliminação tem sido o foco de várias resoluções da Assembleia Mundial da Saúde (WHA 2001, WHO 2013, French et al., 2018, McManus et al., 2018, Kittur et al., 2019). Atualmente, os programas de controle têm se concentrado principalmente no tratamento quimioterápico por meio da administração em massa utilizando o fármaco praziquantel (Andrade et al., 2017, Koukpunari et al., 2007). De fato, a redução global na morbidade da esquistossomose resultante desse tipo de tratamento levou a um forte, e até excessiva, ênfase na quimioterapia como método exclusivo para alcançar a eliminação da doença (Bergquist & Bergquist 2016).



No entanto, apesar do progresso na redução dos casos graves de esquistossomose em várias áreas endêmicas do mundo, incluindo o Brasil, é importante considerar que o tratamento não previne a reinfecção, e esta pode rapidamente restaurar os níveis de infecção após cada programa de tratamento (Bergquist & McManus 2016). Também vale mencionar que o praziquantel, fármaco que é administrado como uma dose única em cada ciclo de tratamento, não atua nos ovos do trematódeo já formados que podem ser eliminados viáveis e contaminar o ambiente, bem como não destrói esquistossômulos que se encontram em processo migratório podendo originar uma nova geração de vermes adultos após 1 a 2 meses do tratamento em massa (McManus et al., 2018). Além disso, devido ao amplo uso do medicamento, o potencial surgimento de resistência é uma preocupação constante, mesmo que ainda não exista evidência definitiva deste fenômeno (McManus et al., 2018, Bergquist et al., 2008, McManus et al., 2020). Outro problema enfrentado pelos programas de tratamento está relacionado com sua forma de aplicação em comunidades endêmicas, nas quais tem se preferido o tratamento caso a caso ao invés do tratamento em massa (Leonardo et al., 2002). A recusa relatada em tomar o medicamento quando os sintomas estão ausentes está enraizada em conceitos errôneos sobre a doença e no medo de efeitos colaterais ou toxicidade (Leonardo et al., 2002, Tallo et al., 2008).

Trabalho publicado por King (2009) demonstra que os programas de controle baseados unicamente em tratamento humano têm efeito temporal na transmissão, sendo necessária uma abordagem multissetorial e mais complexa para o controle da esquistossomose, a fim de abordar adequadamente a biologia e a epidemiologia da doença (Ross et al., 2013). Outra iniciativa importante no controle da esquistossomose é a criação do “O Consórcio de Esquistossomose para Pesquisa Operacional” - (*SCORE -The Schistosomiasis Consortium for Operational Research*) em 2008, que visa melhorar a base de evidências de controle e eliminação da esquistossomose, e a melhor compreensão das morbidades sistêmicas vivenciadas por crianças em áreas endêmicas. De acordo com as análises deste estudo, nenhum cronograma de tratamento em massa levou à eliminação da infecção, sendo aconselhável que os programas de controle adicionem intervenções complementares para alcançar a meta de controle de transmissão da esquistossomose (King, et al., 2020; Danso-Appiah et al., 2021). Essas intervenções devem ser multifacetadas, incluindo: diagnóstico preciso, tratamento, controle de moluscos que atuam como hospedeiro intermediário, informação, saneamento e higiene melhorados, bem como sistemas de resposta à vigilância prontamente adaptados às configurações socioeconômicas (Hotez et al., 2017, Gray et al., 2010, McManus et al., 2018).

Atualmente, os países endêmicos ainda estão lutando em busca de identificar os fatores de risco mais importantes, responsáveis pela rápida disseminação dessa helmintíase, na expectativa de ajudar os gerentes de programas a canalizar recursos onde for importante (Socolo-Gwebu et al., 2019). Apesar do progresso, há dúvidas de que as metas estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde para

controlar a morbidade e eliminação da esquistossomose poderão ser atingidas até 2025 (WHO 2017, Exum et al., 2019, Francisco et al., 2019).

Embora tenha ocorrido inúmeros avanços no controle da esquistossomose, deve-se ressaltar que em pleno século XXI, ainda existem populações negligenciadas, residindo em áreas endêmicas, privadas de condições sociais e econômicas adequadas, esquecidas dentro do atual contexto de crise econômica, social e política. No atual contexto, o impacto e as implicações da pandemia de COVID-19 para os sistemas e programas de saúde, principalmente em áreas endêmicas ainda é desconhecido; entretanto, modelos matemáticos sugerem que a transmissão de doenças infecciosas tende a aumentar gradualmente (Toor et al., 2020). Durante o ano em que os programas de doenças negligenciadas deveriam comemorar as conquistas para as metas almejada para 2020 (WHO 2012) e avançar em direção a metas ainda mais ambiciosas para 2030 (WHO 2020), já temos relatos de que a pandemia de COVID-19 teve profundos impactos tanto nas intervenções terapêuticas, quanto na realização dos programas de vigilância (Tilli et al., 2020, Toor et al., 2020).

## 2.2 Esquistossomose no Brasil

A esquistossomose foi introduzida no Brasil por volta do século XVI a XVII, através do tráfico de escravos, oriundos da África, infectados em boa parte por *S. mansoni* e *S. haematobium*. Só a primeira espécie se estabeleceu devido à presença do hospedeiro intermediário susceptível, moluscos do gênero *Biomphalaria*. Nas últimas décadas, têm ocorrido mudanças significativas nas áreas endêmicas de esquistossomose na América, devido as melhorias socioeconômicas e nos serviços de saúde, mudanças na gestão ambiental, migração da população rural para as cidades onde há um contato mais limitado com rios locais e outros corpos d'água, que impactam a epidemiologia da doença. Estas alterações resultam em diminuição da possibilidade de contato com a água contaminada reduzindo consequentemente a transmissão de *S. mansoni* (Noya et al., 2015; Casavechia et al., 2018, Katz, 2018).

O surgimento de um programa de controle específico para a doença no Brasil ocorreu em 1975, com a criação do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PCE), pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (Sucam). Com a descentralização das ações de vigilância e controle de doenças, em 1999, a execução das ações do PCE passou a ser de responsabilidade compartilhada entre governos estadual e município, que, atualmente, têm papel fundamental nas medidas de controle da esquistossomose no Brasil (BRASIL 1999, Favre 2001). As ações de controle desta parasitose foram inicialmente baseadas na transmissão, visando a eliminação do hospedeiro intermediário com o uso de moluscidas químicos e melhorias sanitárias em áreas endêmicas. A partir de 1984, a estratégia

reorientou-se para o controle da morbidade da doença, tendo como foco o diagnóstico e tratamento dos indivíduos infectados das áreas endêmicas. Inicialmente, o tratamento foi realizado com o Praziquantel Oxaminiquina e, posteriormente, o fármaco Praziquantel foi selecionado para tratamento por mostrar maior eficácia, baixa toxicidade e baixo custo, além de poder ser utilizado em dose única por via oral (WHO, 2013). Após a implementação dessas medidas de controle da esquistossomose, a prevalência e, principalmente, a intensidade da infecção por *S. mansoni* teve grande redução (Barbosa *et al.*, 2008, Rabello *et al.*, 2008), mesmo assim estudos recentes revelam que cerca de 2 milhões de pessoas ainda estejam infectadas no Brasil (Hotez *et al.*, 2008; Noya *et al.*, 2015).

Atualmente a transmissão ocorre do Maranhão ao Espírito Santo, com grande parte dos casos concentrados em Minas Gerais, na Bahia e em regiões litorâneas dos Estados do Nordeste; nas demais áreas a transmissão ocorre de maneira focal (Drummond *et al.*, 2006; Noya *et al.*, 2015; Casavechia *et al.*, 2018). A revisão sistemática de Casavechia *et al.* (2018) identificou uma ampla variação nas taxas de prevalência de infecção por *S. mansoni* no Brasil, entre 2000 a 2012. Os dados mostraram evidências da distribuição bastante heterogênea da doença no Brasil, refletindo diferenças socioeconômicas persistentes. Os principais fatores associados à esquistossomose no período estudado formam um cenário epidemiológico que demonstra claramente a influência de fatores ambientais e sociais na ocorrência da doença.

O último levantamento da doença, realizado no Brasil de 2010 a 2015, mostrou uma redução significativa nos casos positivos da doença, mas estudos têm mostrado que a real situação epidemiológica da doença é subestimada, principalmente devido à ineficiência do método de análise parasitológica utilizado em levantamentos coproscópicos (Paiva *et al.*, 2019, Katz, 2018, Nacife *et al.*, 2018, Oliveira *et al.*, 2018). No Brasil, estima-se que 25 milhões de pessoas residam em áreas com risco de infecção, sendo os estados das regiões Nordeste e Sudeste os mais afetados. Entre 2006 e 2015, ocorreram aproximadamente 508 óbitos anuais no país devido a complicações associadas à esquistossomose (MS 2014, MS 2017, Simões *et al.*, 2020).

As áreas do território brasileiro que originalmente apresentavam alta prevalência de infecção e carga parasitária elevada sofreram modificações em relação ao perfil de transmissão da infecção devido aos programas de controle, tratamento com Praziquantel, migração de populações rurais e melhorias socioeconômicas e no saneamento (Rabello *et al.*, 2008). Embora o tratamento quimioterápico seja eficaz, a reinfeção dos indivíduos tratados é comum nas áreas endêmicas; entretanto, os indivíduos reinfectados geralmente apresentam menor carga parasitária. Tudo isso dificulta o diagnóstico parasitológico com a técnica de Kato-Katz, que apesar do baixo custo e facilidade operacional não detecta com eficácia indivíduos com baixa carga parasitária (De Vlas e Gryseels, 1992; Enk *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2015; Coelho e Caldeira 2016).

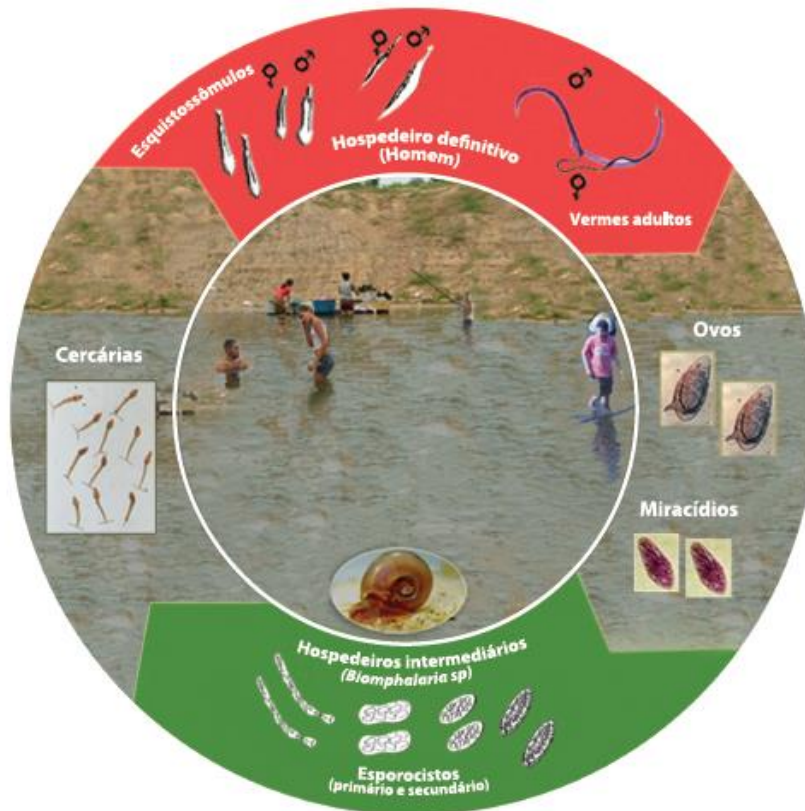
De acordo com as orientações da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2018), os indivíduos infectados por *S. mansoni* são diagnosticados por exame de fezes pela técnica Kato-Katz, no qual são confeccionadas duas lâminas oriundas de uma única amostra. Esta técnica permite estimar a intensidade da infecção, sendo considerado baixa carga parasitaria os indivíduos infectados que eliminam até 99 ovos por grama de fezes (opg), intensidade moderada quando são eliminados de 100 a 399 opg e intensidade alta quando estiver acima de 400 opg. No Brasil, o Ministério da Saúde também recomenda o exame de fezes pela técnica de Kato-Katz para confirmação laboratorial do diagnóstico da esquistossomose, sendo sugerido a coleta de duas amostras de fezes e a realização e exame de duas lâminas por pessoa, sendo ainda recomendado a utilização de métodos sorológicos para aumentar a sensibilidade do diagnóstico (MS, 2014).

Indivíduos infectados com baixa carga, que não são diagnosticados e tratados, mantém a contaminação ambiental favorecendo casos de reinfeção. Além da ineficiência do método diagnóstico, o último levantamento também mostrou que as áreas historicamente endêmicas do país continuam com seu quadro epidemiológico e são de grande relevância para a doença. Isso demonstra que a endemia permanece recrudescente nesses estados, apesar de todas as medidas de controle adotadas e de todos os estudos realizados (Katz, 2018).

## 2.3 Ciclo de vida

Para completar seu desenvolvimento (Figura 1), *S. mansoni* necessita de um hospedeiro intermediário, que no Brasil é representado por espécies susceptíveis de gastrópodes do gênero *Biomphalaria*, incluindo *Biomphalaria tenagophila*, *B. straminea*, *B. glabrata* (Paraense, 2001, Coelho e Caldeira 2016; Sengupta et al., 2019) e um hospedeiro definitivo, sendo o homem o hospedeiro de maior importância epidemiológica (Coelho, 1995; Stothard et al., 2017; Chuah et al., 2019). No homem, *S. mansoni* fica alojado nas veias do sistema porta-hepático e mesentéricas, liberando cerca de 300 ovos na circulação. Aproximadamente 50-60% dos ovos produzidos ficam retidos em vários tecidos provocando uma inflamação granulomatosa. Os demais ovos são capazes de aderir ao endotélio vascular, ultrapassar a mucosa intestinal e ser excretado do hospedeiro com as fezes. No ambiente, os ovos que atingem coleções hídricas liberam o miracídio, larva ciliada que nada para encontrar o seu hospedeiro intermediário. Ao penetrar no molusco, os miracídios se transformam em esporocistos, que sofrem multiplicações assexuadas até originar as cercárias, que são liberadas para o meio aquático pelo estímulo de luz e temperatura. As cercárias penetram ativamente na derme ou mucosa do hospedeiro definitivo com o auxílio do conteúdo de suas glândulas adesivas e de penetração, se transformando em esquistossômulos. Após a penetração, os esquistossômulos migram

preferencialmente pelos vasos sanguíneos para o coração e pulmões e posteriormente se alongam nas veias do sistema porta hepático, onde sofrem maturação sexual e copulam completando seu desenvolvimento (Coelho, 1995; Santos *et al.*, 2008; Nepal *et al.*, 2019; Schwartz e Fallon 2019).



**Figura 1:** Ciclo evolutivo de *Schistosoma mansoni*. Esquema ilustrando as diferentes formas evolutivas do desenvolvimento do parasito, tanto no hospedeiro intermediário como no hospedeiro definitivo. FONTE: Carvalho *et al.*, (2008).

## 2.4 Resposta imune e patologia associada a esquistossomose

A esquistossomose pode ser clinicamente classificada em fase aguda e fase crônica, sendo que a fase aguda pode ser dividida em período pré-patente (antes da oviposição) e pós-patente (após a oviposição) (Hiatt *et al.*, 1979, McManus *et al.*, 2018). Cada etapa dessa progressão clínica de infecção por *S. mansoni* no homem é acompanhada por uma resposta imunológica altamente complexa, compreendendo desde a penetração das cercárias, até a excreção dos ovos ou seu aprisionamento nos tecidos do hospedeiro (Coura *et al.* 1970; Hiatt *et al.* 1979; Ross *et al.* 2002; Gryssels *et al.* 2006).

Na fase aguda pré-postural da esquistossomose a reatividade imunológica é induzida por antígenos liberados durante a migração de vermes, que induzem uma resposta imune predominantemente do tipo 1, caracterizada por níveis mais elevados citocinas pro-inflamatórias como

interferon gama (IFN- $\gamma$ ), interleucinas 2 (IL-2), IL-1, IL-12, IL-6, e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que persiste por cerca de 5-6 semanas (Correa-Oliveira *et al.*, 1998; De Jesus *et al.*, 2002, Schwartz e Fallon 2018). De forma geral, os sintomas da fase aguda são inespecíficos e associados com a intensidade do processo inflamatório induzido pelo verme, sendo relatado febre, fadiga e dor abdominal, que são mais frequentes em indivíduos com maior carga parasitária e residentes de áreas não endêmicas e sem exposição previa ao parasito (Gazzinelli *et al.*, 1985, Ross *et al.*, 2002, Gryseels *et al.*, 2006, Colley *et al.*, 2014, McManus *et al.*, 2018).

Indivíduos que vivem em áreas endêmicas estão continuamente em contato com os antígenos do parasito, apresentando poucos sintomas na fase aguda, desenvolvendo comumente a esquistossomose crônica (Ross *et al.*, 2002, Gryseels *et al.*, 2006, Colley *et al.*, 2014, McManus *et al.*, 2018). Acredita-se que esses residentes sofram sensibilização “*in útero*”, como consequência da infecção materna, assim ao se infectarem na infância respondem ao parasito de forma diferente, geralmente mais modulada, em relação àqueles que não são de áreas endêmicas (Novato-Silva *et al.*, 1992; Andrade, 2008). Nesses indivíduos as manifestações clínicas são menos severas e geralmente associadas às reações imunopatológicas contra os ovos do parasito presos no tecido hospedeiro (Ross *et al.*, 2002, Gryseels *et al.*, 2006, Colley *et al.*, 2014, McManus *et al.*, 2018, McManus *et al.*, 2020).

No início da fase aguda da esquistossomose, alguns indivíduos também apresentar erupções micropapulares eritematosas e discretamente edemaciadas em decorrência da penetração das cercarias na pele, conhecida como dermatite cercariana, quadro mais frequente em indivíduos já expostos ao parasito (Incani & McLaren 1984, Jenkins *et al.* 2005, Gryseels 2012).

Conforme ocorre a maturação dos vermes e cronicidade da infecção, vão surgindo respostas inflamatórias locais associadas aos componentes secretados pelos ovos retidos nos tecidos do hospedeiro, apontada como principal estímulo para indução da resposta Th2 (Grzych *et al.*, 1991). Nessa fase, a produção de IFN- $\gamma$  diminui, enquanto ocorre indução da ativação de células T CD4<sup>+</sup> com perfil de Th2. Essa resposta de tipo 2 é caracterizada pela expansão de células Th2 com produção aumentada de das citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, que estimula a diferenciação e ativação de eosinófilos e basófilos a ativação de macrófagos alternativamente ativados ou M2, bem como o aumento da uma mudança de isotipo para IgG4 e IgE, (Pearce e Macdonald 2002; Schwartz *et al.*, 2014). A ativação de células teciduais também ocorre em resposta a produção de antígenos do ovo, que juntamente com as células recrutadas da circulação durante a resposta Th2, estimulam a produção e deposição de matriz extra-celular, formando uma reação celular organizada denominada de granuloma esquistossomótico. Os granulomas são capazes de conter antígenos do ovo, mas também são progressivamente substituídos por depósitos fibróticos, que, dependendo da extensão e intensidade, podem causar os

quadros mais graves de hepatoesplenomegalia (Doenhoff 1997, Schwartz & Fallon 2018, Costain et al., 2018, McManus et al., 2018).

A indução de uma resposta do tipo-2 por antígenos do ovo do parasito estimula mecanismos responsáveis pela remodelação tecidual e também tem efeito inibidor sobre a inflamação mediada pela elevação de citocinas do tipo Th1 ou Th17 que ocorre predominante no início da infecção e geralmente provoca maior dano tecidual (Chen *et al.*, 2012; Medzhitov *et al.*, 2012; Gause *et al.*, 2013). Assim, alguns estudos de infecção por helmintos sugerem que a polarização da resposta Th2 é uma estratégia de evasão do parasito, permitindo maior sobrevivência do parasito, mas também reduzindo os danos do hospedeiro (Medzhitov *et al.*, 2012). Estudos experimentais indicam que a incapacidade do hospedeiro desenvolver uma resposta Th2 durante a deposição de ovos resulta em uma resposta Th1 e Th17 mais intensa e conseqüente exacerbação da lesão tecidual, que pode resultar em aumento da mortalidade ainda na fase aguda da infecção (Stadecker *et al.*, 2004).

Este ambiente imunológico é essencial para o recrutamento e ativação das células responsáveis pela formação do granuloma ao redor dos ovos do parasito e também pela ativação de macrófagos, de células hepáticas estreladas (HSC) e da sua diferenciação em miofibroblastos, que levam a produção dos componentes da matriz extracelular (ECM) essenciais na remodelação tecidual, mas também para formação de fibrose (Pearce & Sher, 1991; Tiggleman et al., 1995; Stadecker & Hernandez, 1998; Maizels & Yazdanbakhsh, 2003; Pearce et al., 2004; Burke et al., 2009).

Esse quadro pode evoluir para a forma crônica da infecção (> 3 meses), na qual a magnitude da resposta Th2 diminui, resultando em uma redução na inflamação granulomatosa em torno dos ovos, que coincide com aumento de células T e B com perfil regulador, responsáveis por um estado de hiporresponsividade imunológica (Grzych *et al.*, 1991; Taylor *et al.*, 2006; Layland *et al.*, 2007). A produção aumentada de IL-10 tem sido associada com a regulação da resposta imune e controle da morbidade em pacientes crônicos assintomáticos ou com sintomatologia leve (Malaquias *et al.*, 1997; Montenegro *et al.*, 1999). A produção desta interleucina pode contribuir para o desenvolvimento da população de células T regulatórias e inibir respostas inflamatórias, tanto a resposta imune Th1 quanto a Th2, regulando a intensidade da inflamação, atuando na redução da formação de granulomas hepáticos e da indução de fibrose (Dunne & Cooke 2005; Van der Vlugt *et al.*, 2014). Na ausência dessa modulação imunológica, alguns pacientes podem desenvolver o estágio mais grave da esquistossomose crônica, que resulta de uma inflamação granulomatosa intensa, responsável por extensa fibrose periportal, podendo acarretar na obstrução do vaso e aumento da pressão portal (Andrade & Prata 1963; Boros & Warren, 1970; Cheever et al., 2000; Andrade, 2009; Wynn & Barron, 2010), caracterizando a forma clínica hepatoesplênica. A carga parasitária e a exposição frequente às reinfecções estão entre as principais causas da evolução para forma grave (Bina & Prata 2003;

Carvalho & Andrade 2005; Andrade 2008), porém outros fatores também contribuem para a gravidade da esquistossomose, como fatores genéticos e imunológicos (Butterworth *et al.* 1985; Cheever *et al.* 1987; Dessein *et al.* 1999; Dunne & Pearce 1999).

Com o tempo ocorre a diminuição gradual da carga parasitária na maioria dos indivíduos expostos continuamente à infecção pela esquistossomose, à medida que a imunidade adquirida parcial também se desenvolve contra novas infecções. Concomitantemente, devido à morte natural dos parasitas, há uma redução no número de vermes estabelecidos, resultando em um número menor de novos ovos sendo alojados no tecido hospedeiro ou excretados (Wilkins *et al.*, 1984, McManus *et al.*, 2018). Além disso, devido à regulação negativa imunológica, os granulomas recém-formados são menores, enquanto que os ovos são mortos, qualquer granuloma formado anteriormente gradualmente vai sendo substituído por cicatrizes (tecido fibroso), contribuindo assim para uma severidade lenta e progressiva dos sintomas (McManus *et al.*, 2018).

De acordo com Coura *et al.*, (2008) a maioria dos pacientes de áreas endêmicas são assintomáticos e apresentam um perfil Th2 modulado, no qual a infecção é capaz de favorecer a produção da interleucina 10 (IL-10) e a modulação da morbidade. Entretanto, este perfil de resposta pode ser diferente neste novo cenário epidemiológico da esquistossomose, onde a maioria dos indivíduos infectados que vivem em áreas endêmicas apresentam baixa carga parasitária e são frequentemente reinfetados. Possíveis alterações na resposta imunológica associada a infecção por *S. mansoni* neste contexto pode ter impacto para a morbidade da esquistossomose bem como pode afetar sua relação com outras co-morbidades que o hospedeiro esteja sujeito, como é o caso de resposta alérgica, principal foco deste estudo.

## 2.5 Doenças alérgicas

A resposta imune Th2, associada à eosinofilia, mastocitose e produção de IgE, não é apenas característica de infecções helmínticas, mas também de alergias (Fitzsimmons, *et al.*, 2014). Alergias são doenças crônicas complexas caracterizadas pela resposta Th2 exacerbada e desregulada a antígenos ambientais (Tang *et al.*, 2003; Lynch & Boushey, 2016).

A prevalência de diferentes doenças alérgicas, como a febre do feno, asma e alergia alimentar, tem apresentado uma intensa e rápida elevação nos últimos 60 anos, porém a taxa e o padrão de crescimento não tem sido uniforme entre as doenças e nem entre as diferentes regiões do mundo (Bach 2002; Holgate *et al.*, 2015; Rock 2009; Hanski *et al.*, 2012; Von Hertzen *et al.*, 2011; Nakagomi *et al.*, 1994; Steingger *et al.*, 2018; O'Connell 2004; Bernard *et al.*, 2006; Alcantâra-Neves *et al.*, 2010). Em geral, as maiores taxas de prevalência de doenças alérgicas têm sido encontradas na Europa Ocidental,



América do Norte, Japão, Austrália e Nova Zelândia, mas as taxas de prevalência estão aumentando, mesmo em países em desenvolvimento, com economia em grande parte agrária (Pearce et al., 2007).

A atopia é tipicamente associada a produção elevada de anticorpos IgE em resposta à exposição a alérgenos, sendo que alguns atópicos podem evoluir para sintomatologia relacionadas a doenças alérgicas (Suh e Koh 2013; Santiago e Nutman 2016). Essas doenças resultam da interação entre fatores genéticos e ambientais podendo afetar diferentes órgãos do hospedeiro, manifestando-se como asma, rinite, eczema e alergias alimentares (Cooper 2004; Sitcharungsi et al., 2013). Entre os principais fatores de risco para essas doenças foram identificados histórico familiar, prematuridade, infecções respiratórias virais no início da vida, inalação de poluentes no local de trabalho, falta de exposição a agentes infecciosos e vida urbana (Tang *et al.*, 2003; Lynch & Boushey, 2016).

No Brasil, a asma alérgica é importante causa de morbidade e mortalidade com impacto econômico significativo (Ponte et al., 2007; Cooper et al., 2009). O aumento da prevalência dessas doenças imunomediadas tem sido associado à diminuição dos mecanismos de tolerância, alterações atribuídas à efeitos de desenvolvimento econômico e da industrialização, redução da biodiversidade e da exposição a uma variedade de microrganismos, além de uso disseminado de antibióticos principalmente em crianças (Haahtela et al., 2013; Strachan 1989; Yazdanbakhsh et al., 2002).

Os supostos efeitos da exposição reduzida a microrganismos e seus produtos no desenvolvimento imune e consequente risco aumentado de doenças inflamatórias foi inicialmente proposto pela hipótese da higiene (Strachan 1989), denominada mais recentemente como a hipótese da biodiversidade (Hanski et al., 2012; Von Hertzen et al., 2011; Haahtela et al., 2013). Estudos epidemiológicos têm buscado identificar fatores ambientais que podem estar associados com aumento do risco de alergia, destacando as diferenças no estilo de vida, sendo a diminuição da exposição a agentes infecciosos, incluindo infecções por helmintos, um dos fatores investigados. Não há consenso na literatura publicada sobre os efeitos das infecções parasitárias na alergia, talvez como consequência de fatores determinantes da epidemiologia dessas infecções que variam entre as populações, como idade da primeira infecção, duração e cronicidade das infecções, carga parasitária e espécies, e suscetibilidade genética do hospedeiro (Andrade et al., 2018).

Trabalhos recentes em modelos experimentais demonstraram o papel essencial da integridade da barreira epidérmica para indução da resposta alérgica (Hammad e Labrecht 2015; Weitnauer et al., 2015; Deckers et al., 2017; Suchiva et al., 2017, Agache et al., 2020). Como principal sítio de exposição inicial à alérgenos, as células epiteliais têm participação fundamental na iniciação e efetividade da imunidade tipo 2, bem como são os principais alvos dos mecanismos de reparo, emergindo assim como atores centrais na regulação inata das respostas de tipo 2. Trabalhos tem demonstrado que danos induzidos por alérgenos às células epiteliais (CEs) da mucosa e da pele liberam

alarminas, incluindo a IL-33, IL-25 e linfopoiética estromal tímica (TSLP), capazes de recrutar e ativar células dendríticas e células do sistema imune inato, como eosinófilos e mastócitos, que liberam citocinas que auxiliam na diferenciação de uma resposta Th-2 (Iliev et al., 2009; Wang et al., 2009; Hammad & Lambrecht, 2015). A flora intestinal também tem se mostrado importante fator na evolução das respostas alérgicas, contribuindo para o desenvolvimento, maturação e ativação do sistema imune do hospedeiro, influenciando através de uma relação mutualística, tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa (Macpherson & Harris 2004; Round & Mazmanian 2009; Kabat et al., 2014; Zaiss et al., 2015). Tomados em conjunto, esses fatores auxiliam na produção de citocinas/alarminas inatas capazes de interferir na maturação de células dendríticas e na ativação do subconjunto de linfócitos inatos que são essenciais para diferenciação e modulação de Th2 (Lambrecht e Hammad 2017).

A importância da flora intestinal no desenvolvimento do sistema imune do hospedeiro também vem sendo apontada como um dos fatores responsáveis pelo aumento das doenças alérgicas. Estudos que demonstraram pela primeira vez a importância da microbiota intestinal no balanço do sistema imunológico foram desenvolvidos com camundongos livres de germes (Macpherson & Harris 2004 e Round & Mazmanian 2009). Estes animais apresentam intestino e linfonodos mesentéricos pouco desenvolvidos, diminuição da produção de IgA e resistência diminuída a infecções. A presença de bactérias específicas parece ser crítica para a proliferação e ativação de subconjuntos de células T auxiliares em camundongos com perfil regulador, e uma deficiência nestas espécies ou um excesso de outras espécies no trato gastrointestinal pode desequilibrar a função imunológica, subjacente à doença alérgica.

Coletivamente estes dados sugerem que o aumento na prevalência das doenças alérgicas ocorridas a partir da revolução pós-industrial tem sido associado a alterações ambientais, nutricionais e comportamentais que podem afetar a composição da microbiota bacteriana intestinal desde o início da vida, e conseqüentemente alterar interações funcionais da microbiota com o hospedeiro, levando a alterações nos padrões de respostas imune induzidos durante a exposição aos alérgenos e às infecções (Lynch et al., 2016).

## **2.6 Doenças alérgicas e helmintos**

As infecções parasitárias crônicas, especialmente as helmintíases, tem um grande impacto na resposta imunológica do hospedeiro, pois são organismos capazes de induzir mecanismos de regulação imunológica no hospedeiro, alterando respostas imunológicas exacerbadas, como é o caso de doenças alérgicas (Cruz et al., 2017; McSorley et al., 2018) e doenças autoimunes (Figueiredo et al., 2010). A

resposta inflamatória do hospedeiro aos helmintos parasitas, como os geohelmintos e os agentes da esquistossomose também apresentam um perfil de resposta Th-2 com muitas semelhanças com a resposta característica de condições atópicas, incluindo uma eosinofilia sistêmica e IgE sérica elevada. (Pulendran e Artis 2012; Mingomataj et al., 2006; Mendonça 2012). Entretanto, um estudo de todos os municípios do Brasil relatou taxas mais baixas de hospitalização por asma em áreas endêmicas para *S. mansoni* ou helmintos transmitidos pelo solo, (Ponte et al., 2007) indicando que infecções crônicas por estes parasitos podem contribuir para uma redução na prevalência e na gravidade da asma.

Muitos fatores podem influenciar na determinação dos efeitos de infecções parasitárias na modulação das doenças alérgicas. É provável que helmintos tenham exercido uma pressão de seleção considerável durante centenas de milhões de anos de coevolução com seus hospedeiros mamíferos (Jackson *et al.*, 2009, Gause *et al.*, 2013). Assim, a evolução da resposta imune Th2 associada com mecanismos modulatórios, é uma consequência provável da pressão de seleção exercida pela infecção com helmintos sob seus hospedeiros, permitindo a sobrevivência do parasito e uma menor patologia do hospedeiro (Gause *et al.*, 2013, Palm *et al.*, 2012). Dessa forma, helmintos tornam-se potenciais reguladores do sistema imune do hospedeiro, por modular o tipo de resposta efetora no controle do parasito estimulando uma hiporreatividade de células T, que facilita a indução de uma rede reguladora. Esta rede de modulação inclui a atividade de células T reguladoras, células B modulatória e de modulação das células da resposta inata, tais como macrófagos, células dendríticas e células estromais locais, resultando em um ambiente anti-inflamatório, caracterizada pelo aumento dos níveis de IL -10 e TGF- $\beta$  (Mahanty & Nutman 1995; Akdis et al., 1998; Holt et al., 1999; Doetze et al., 2000; Maizels *et al.*, 2008). Através desses estímulos, os helmintos limitam seus danos teciduais e garantem sua sobrevivência no hospedeiro durante anos (Lynch et al., 2006).

A indução dessa rede regulatória provocada pela exposição crônica a antígenos do parasito pode afetar localmente a resposta a outros antígenos, oferecendo uma explicação para a relação inversa da associação de muitas infecções com doenças alérgicas (Khan et al., 2013). Smits e colaboradores (2010) sugeriram que a hiporresponsividade não é apenas dirigida para antígenos de parasitos, mas também pode se estender a outros antígenos que estejam nesse microambiente, como é o caso de antígenos vacinais, outros patógenos ou mesmo alérgenos. Nesta hipótese, a regulação imune induzida pela infecção crônica por helmintos pode também controlar respostas inflamatórias específicas para alérgenos e, assim, levar a menor prevalência ou morbidade de doenças alérgicas em indivíduos infectados por helmintos.

Para entender melhor como condições precárias de higiene podem mediar seus efeitos sobre o risco de alergia por meio da modificação da resposta de citocinas humanas, Figueiredo et al., (2009) estudaram os efeitos de exposições ambientais associadas à falta de higiene em de crianças com até 8

anos na cidade de Salvador e que vivem em condições ambientais desfavoráveis no início da vida (ou seja, sem sistema de esgoto, água potável ou coleta de lixo). Nestas crianças foi verificado maior produção espontânea de IL-10 produzido por leucócitos do sangue periférico (PBLs) que foi associado à maior prevalência de helmintíases e, conseqüentemente, indução de uma rede de regulação imunológica durante a infância, que afetaria o estabelecimento da alergia (Figueiredo et al., 2010, Figueiredo et al., 2011). Assim, melhorias nas condições sanitárias podem contribuir para redução da prevalência de infecções parasitárias crônicas, mas também pode afetar a indução de mecanismos de regulação imune, contribuindo para um aumento da prevalência de doenças alérgicas observadas nas últimas décadas em países de baixa e média renda, como o Brasil (Alcântara-Neves et al., 2012; Figueiredo et al., 2013; Klís et al., 2017).

Uma correlação inversa entre a prevalência de infecções parasitárias por helmintos e asma pode ser observada regionalmente no Brasil em áreas com diferentes condições sanitárias e socioeconômicas: as regiões norte e nordeste com as maiores taxas de prevalência de infecções por helmintos também apresentam a menor prevalência de asma entre adolescentes, enquanto o inverso é visto para as regiões sul e central relativamente mais desenvolvidas (Kuschnir et al., 2016; DATASUS 2018).

Entretanto, outros estudos epidemiológicos revelam que o efeito das helmintíases em doenças alérgicas é contraditório; com dados que suportam a falta de relação entre helmintíasis e alergia (Cooper et al., 2006), e outros estudos que indicam que helmintíasis pode agravar doenças alérgicas (Pereira et al., 2007; Hagel, et al., 2007; Webb et al., 2016). Os efeitos reais de helmintos e alergias em uma população particular podem ser afetados por múltiplos fatores, incluindo a idade da primeira infecção, duração e cronicidade das infecções, carga parasitária, espécies parasitas presentes e antecedentes genéticos dessa população (Cooper 2009). Para diminuir as inconsistências e melhor compreender essa associação, mais estudos são necessários. A maioria dos trabalhos publicados foram realizados em áreas endêmicas com alta carga parasitária, onde a indução de resposta imune regulatória pode ser demonstrada (Smits 2010). É preciso considerar que essa realidade tem mudado após a implementação dos programas de intervenção e controle de helmintoses em várias regiões endêmicas do mundo, resultando em áreas onde a maioria dos indivíduos infectados apresentam baixa carga parasitária. Esta mudança no perfil epidemiológico das helmintíasis, especialmente da esquistossomose, pode ter grande impacto no perfil imunológico do hospedeiro, e conseqüentemente, na possível relação com doenças inflamatórias crônicas como é o caso de doenças alérgicas.

### 3. JUSTIFICATIVA

A ação de Vigilância Epidemiológica da Esquistossomose do Ministério da Saúde no Brasil, atuando na maioria dos municípios de áreas endêmicas, tem impactado positivamente no diagnóstico e tratamento de pacientes com *S. mansoni*, reduzindo a prevalência da esquistossomose e, principalmente, a ocorrência de formas graves e dos óbitos associados a doença (Katz 2018). O país está em período de transição epidemiológica. O efeito das mudanças nos hábitos de vida, saneamento e assistência médica também contribuíram para melhorias neste cenário epidemiológico, que demonstra claramente a influência de fatores ambientais e sociais na ocorrência da doença (Noya et al., 2015; Coelho et al., 2016). Apesar disto, residentes de área endêmica continuam expostos a reinfeções frequentes, geralmente causando infecções de baixa intensidade e cujo efeito ainda são pouco investigados.

A exposição frequente e prolongada ao parasito pode ter um resultado cumulativo em residentes de áreas endêmicas e esses fatores temporais também podem influenciar na mudança de perfil da doença. Esse efeito pode causar mudanças de magnitudes diferentes na população, alterando padrões de intensidade de carga, faixa etária mais afetada, resposta imune e morbidade (Holford 1991, Robertson et al., 1999, Simões et al., 2020).

Estudos tem indicado que infecções parasitárias podem modular o sistema imunológico humano e influenciar o desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas, como a asma alérgica (Andrade et al., 2018). Entretanto, a associação inversa entre alergias e a infecção por helmintos ainda não está clara. Múltiplos fatores, incluindo espécies de helmintos, tempo de infecção do hospedeiro, carga parasitária, local e cronicidade da infecção, são determinantes no desfecho modulatório (Smits e Yazdanbakhsh 2007; Kouchkovsky et al., 2017). A maioria dos estudos experimentais tem avaliado o efeito modulatório da infecção helmíntica como uma estratégia preventiva para controlar inflamações crônicas (Jarrett et al., 1980; Evans e Mitre 2015), enquanto ensaios clínicos (Bager et al., 2009; Coelho et al., 2016) tem sido projetado para avaliar o efeito terapêutico da infecção helmíntica na alergia cronicamente estabelecida, mas não apresentaram melhorias consideráveis, indicando a necessidade de mais estudos. Outro aspecto a ser considerado, é que a maioria dos estudos epidemiológicos que mostraram uma associação inversa entre infecção por helmintos e alergias foi realizada em populações expostas cronicamente a alta carga parasitária. No Brasil, os achados sobre a interação alergia-helmintoses em humanos de diferentes regiões permanecem contraditórios, e há uma necessidade de mais estudos relacionados à exposição ao parasita (Cruz et al., 2017).

Conhecer os fatores determinantes para a infecção por *S. mansoni* nesse momento transitório e avaliar seus efeitos na indução de uma resposta modulatória, torna-se um investimento necessário e

civilizatório, possibilitando projetar nosso futuro como nação. Dessa forma, avaliamos os fatores de risco que podem propiciar a infecção por *S. mansoni*, seus mediadores imunológicos e sua relação com a reatividade de IgE a alérgenos de poeira, em uma área rural endêmica para esquistossomose, localizada no norte de Minas Gerais, Brasil, onde os indivíduos apresentam baixa carga parasitária e frequente re-exposição ao parasito. Nossa hipótese é que este novo cenário epidemiológico da esquistossomose pode afetar a indução da resposta imune em residentes de área endêmica, e consequentemente, seu efeito na modulação da reatividade alérgica.

#### 4. OBJETIVO GERAL:

Avaliar aspectos epidemiológicos, parasitológicos e imunológicos associados à infecção por *Schistosoma mansoni* e à reatividade alérgica, bem como possíveis associações entre estas patologias em residentes na comunidade rural de Brejo do Amparo, em Januária-MG.

#### 4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estimar a prevalência e carga parasitária de *S. mansoni* através de múltiplos exames parasitológicos e molecular na população de Brejo do Amparo;
- Identificar a prevalência e intensidade da reatividade ao IgE específico à alérgenos de poeira doméstica na população de Brejo do Amparo;
- Caracterizar o perfil imunológico através da quantificação de níveis séricos de citocinas, quimiocinas, IgE total na população de Brejo do Amparo;
- Avaliar a influência dos fatores sócio-demográficos, mediadores imunológicos e hematológicos na infecção por *S. mansoni* em residentes em Brejo do Amparo, em Januária-MG;
- Reavaliar e caracterizar os parâmetros imunológicos, parasitológicos e teste alérgico, após 12 meses do tratamento com Praziquantel na população de Brejo do Amparo;
- Investigar possíveis associações entre prevalência, incidência e intensidade da infecção por *S. mansoni*, no perfil de resposta imune e na reatividade alérgica à antígenos da poeira doméstica na população de Brejo do Amparo, em Januária-MG, antes e após 12 meses do tratamento com Praziquantel.

## 5. MATERIAIS E METODOS

### 5.1 Considerações éticas

Os objetivos do estudo foram apresentados e explicados a todos os participantes, e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Anexo 1) e Termo de Assentimento foram individualmente assinados e armazenados. O projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da CPqRR-COEP (CAAE#21824513.9.0000.5091 – Anexo 2). Foram agendados os exames clínicos com coleta de sangue e fezes. Após cada tempo de avaliação, os resultados individuais foram encaminhados para cada participante e pacientes com exames positivos receberam tratamento oral gratuitamente no posto de saúde local, sendo utilizado para esquistossomose o Praziquantel (40-60 mg/kg), Albendazol (400 mg em dose única) para helmintos intestinais e metronidazol (250 mg / 2x / 5 dias) para controle de protozoários parasitas.

### 5.2 População de estudo e Desenho experimental

O projeto teve início em 2014, e objetivou avaliar o aprimoramento de técnicas diagnósticas para esquistossomose em cenários epidemiológicos distintos. Nosso estudo foi parte desse projeto, sendo desenvolvido em residentes de Brejo do Amparo, uma comunidade rural do município de Januária localizada no norte do estado de Minas Gerais, Brasil (15° 29' 16" S 44° 21' 43" O). Essa comunidade rural é historicamente endêmica para esquistossomose e atualmente possui cerca de 270 residentes. De acordo com o Programa de Controle de Esquistossomose (PCE) e autoridades de saúde locais, a prevalência estimada de Esquistossomose foi de 20%, no levantamento realizado em 2010 (Ruas et al., 2013) e não foram realizadas intervenções de controle nessa área nos dois anos anteriores ao início do presente estudo.

Nesta localidade foi conduzido um estudo longitudinal de base populacional incluindo residentes de ambos os sexos, com idade entre dois e 88 anos que concordaram em participar da pesquisa através da assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido. Foram excluídas mulheres grávidas; indivíduos portadores de doenças cognitivas, psiquiátricas e distúrbios de comportamento, que poderiam de alguma forma interferir na habilidade do voluntário de entender e cooperar com o protocolo de estudo.

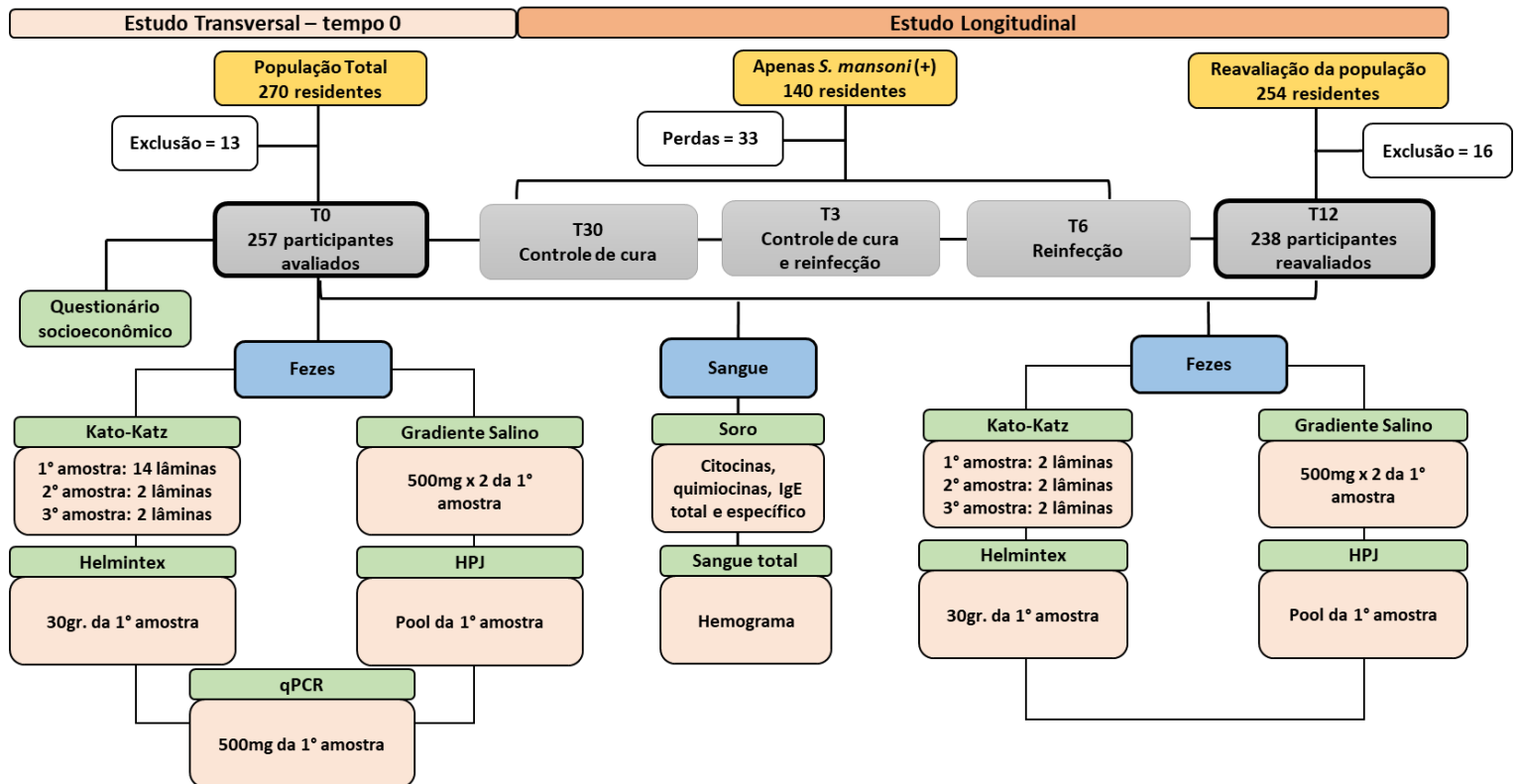
Foram coletadas amostras de fezes (n= 257) e sangue (n= 207) no início do estudo (T0) para realização dos exames parasitológicos, imunológicos, moleculares e hemograma. Os pacientes que apresentaram ovos de *S. mansoni* nas fezes foram tratados com praziquantel e reavaliados após 30 dias (T30), três (T3) e seis (T6) meses após o tratamento com Praziquantel para controle de cura e re-



infecção. Um ano depois (T12), toda a população (positivo ou negativo para esquistossomose) foi reavaliada.

Os participantes foram convidados a fornecer três amostras fecais, que foram recolhidas em dias consecutivos. A primeira amostra fecal foi recolhida em recipiente de plástico de 500 ml, suficiente para uma evacuação completa. As outras duas amostras fecais eram menores e foram coletadas em potes de plástico de 80 ml. As amostras fecais foram levadas para o laboratório de campo, no município de Januária, e imediatamente processadas para realização de análises parasitológicas. Participantes com idade entre 5 e 75 anos de idade também foram convidados a doar amostra de sangue (n=207), as quais foram usadas para as análises imunológicas. Cinco milímetros de sangue venoso foram coletados de cada participante em tubos com ácido etilenediaminetetracético (EDTA - Biocon, Belo Horizonte, Brasil). As análises de hemograma foram realizadas no laboratório clínico Milenium, localizado no município, e os dados de contagem de células circulantes e concentração de hemoglobina no sangue periférico foram usados no presente estudo. Adicionalmente, 10-15 ml de sangue foram coletados sem o anticoagulante, e as amostras de soro foram aliquotadas e armazenadas a -20°C para subsequente quantificação de citocinas e quimiocinas, IgE total e níveis de reatividade de IgE específico para alérgenos comuns em poeira doméstica. O fluxograma da Figura 2 ilustra o desenho de estudo e os testes realizados em cada etapa. Os exames propostos foram realizados em todos os indivíduos que tinham o volume de amostra biológica necessária para a análise e o número exato de participantes que realizou cada exame está especificado nos resultados. Nas análises multivariadas foram incluídos somente indivíduos com resultados para todos os testes

Os participantes ou seus responsáveis legais responderam um questionário individual (Anexo 4) contendo informações demográficas e ocupacionais, tanto quanto histórico de condições clínicas que podem ser relevantes para a pesquisa. Um questionário familiar (Anexo 3) também foi aplicado para coletar informações sobre a estrutura das residências, abastecimento de água, saneamento e outros aspectos socioeconômicos.



**Figura 2:** Fluxograma representando as coletas e processamento de amostras de cada etapa do estudo longitudinal realizado na população da comunidade rural de Brejo do Amparo em Januária-MG. Fonte: Elaborado pelo autor.

### 5.3 Análises Parasitológicas

As análises parasitológicas aplicadas na população estudada, foram previamente descritas (Oliveira et al., 2018). Da primeira amostra fecal, 500 mg foi separado e congelado para realização do teste molecular. O restante do material fecal da primeira coleta foi utilizado para preparação de 14 lâminas de Kato-Katz, 500mg das fezes foi utilizada para realização da técnica de Gradiente Salino, 30 g para a técnica de Helminx e o restante processado para realização do método de sedimentação espontânea, que foi usado para avaliar a presença/ausência de protozoários. A segunda e terceira amostras de fezes de cada indivíduo foram utilizadas para realização de 2 lâminas de Kato Katz por amostra.

Para a realização da técnica de Kato-Katz (Kato, 1954, modificado por Katz *et al.*, 1972) foi utilizado o kit HELM TEST (Bio Manguinhos, Rio de Janeiro - RJ). Nesta técnica, uma amostra de fezes frescas de cada indivíduo foi colocada sobre um papel de filtro e foi pressionada sob uma tela descartável com auxílio de uma espátula, fornecidos pelo kit. Posteriormente, o material fecal filtrado pela tela foi utilizado para preencher completamente o orifício de uma placa de plástico (6 mm de diâmetro) acomodada sobre uma lâmina de vidro para microscopia, resultando em uma amostra de aproximadamente de 42 mg de fezes. Uma lamínula de celofane embebida em solução aquosa com

50% de glicerina contendo 0,15 % Verde Malaquita foi sobreposta na amostra sob a lâmina de vidro e esta foi pressionada com o polegar até obter uma uniformidade do material. As lâminas foram secadas por pelo menos 60 min., examinadas sob o microscópio ótico (100x) e a presença de ovos de *S. mansoni* e ovos de outros helmintos intestinais foram anotados. Os exames foram realizados por microscopistas experientes e, pelo menos 15% de todas as lâminas, foram lidas e confirmadas por uma segunda pessoa.

O exame parasitológico denominado de Gradiente Salino foi realizado conforme descrito por Coelho et al. (2009), sendo utilizado 500 mg de fezes coletada da primeira amostra fecal de cada indivíduo. Esta técnica baseia-se na maior densidade dos ovos de *S. mansoni* em relação ao material fecal, permitindo sua sedimentação em uma solução salina concentrada. As fezes foram homogeneizadas em solução fisiológica com auxílio de um bastão de vidro e a mistura foi depositada sob a placa porosa das colunas do aparelho previamente umedecida com solução salina 3%. Cada coluna contendo as amostras fecais foi submetida a um fluxo lento de solução salina à 3% durante uma hora. O sobrenadante foi removido e o sedimento foi recolhido e examinado em microscópio ótico para identificação dos ovos de *S. mansoni*.

O método Helmintex<sup>®</sup> foi realizado como descrito por Teixeira et al. (2007). Nesta técnica qualitativa foram utilizados 30 gramas de fezes da primeira amostra coletada que foram submetidas a várias etapas de filtração e sedimentação para limpeza da amostra. Ao sedimento contendo os ovos do parasito foi adicionada uma solução com partículas magnéticas e a solução foi exposta a um campo magnético. Os ovos de *S. mansoni* aderem às partículas magnéticas e são separados do restante do material fecal pelo campo magnético. Finalmente, a suspensão livre é descartada e as partículas ligadas são transferidas para lâminas de microscópio para a procura de ovos de *S. mansoni*.

No exame qualitativo de Sedimentação Espontânea ou HPJ (Hoffman, Pons e Janer, 1934), foram utilizados cerca de 5g de fezes frescas. A amostra foi homogeneizada em um béquer com 10 mL de água filtrada e posteriormente foi transferida para um cálice passando por um filtro composto por uma gaze dobrada sobre uma peneira. Mais água filtrada foi adicionada sobre a amostra até completar o volume do cálice. Após 2h de decantação, amostras do sedimento foram colocadas na lâmina com o auxílio de uma pipeta de Pasteur para avaliação em microscopia óptica.

O Gradiente Salino e Helmintex<sup>®</sup> foram utilizados como testes qualitativos apesar de permitirem a análise quantitativa. Para determinar a carga parasitária, o número médio de ovos de *S. mansoni* obtidos de seis lâminas, as duas primeiras lâminas de cada amostra fecal, foi calculada e multiplicada por 24 para estimar o número total de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes (OPG) (Katz et al., 1972).

Para o controle de cura, os indivíduos com presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes foram tratados e reexaminados após 30 dias, 3 e 5 meses após o tratamento inicial. Todos os pacientes tratados passaram novamente pela avaliação parasitológica de fezes, utilizando os mesmos testes da primeira coleta: Kato-Katz, HPJ, Gradiente Salino e Helmintex<sup>®</sup> e foram re-tratados em caso de diagnóstico positivo.

Após 12 meses, toda a população originalmente examinada no T0 foi convidada a novamente fornecer 3 amostras de fezes e sangue. As coletas realizadas no T0 permitiram verificar que 3 amostras de fezes com realização de 6 lâminas de Kato-Katz (2 lâminas de cada amostra fecal) é uma estratégia mais sensível para diagnóstico de *S. mansoni* que a realização de 18 lâminas de uma única amostra (Oliveira et al., 2018). Desta forma, para identificação de pessoas infectadas no T12 foram confecção de 6 lâminas de Kato Katz, sendo duas lâminas advindas de 3 amostras coletadas nessa fase, o Helmintex, Gradiente salino e o método de sedimentação espontânea.

#### 5.4 Extração de DNA e qPCR

O DNA foi extraído de 500mg de amostra fecal do T0 usando o kit comercial QIAamp<sup>®</sup> DNA Stool Mini Kit, de acordo com as instruções do fabricante (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). Os primers, senso 5'-CCG ACC AAC CGT TCT ATG A-3' e anti-senso 5'-CAC GCT CTC GCA AAT AAT CTA AA-3' e a sonda 5'-6[FAM]/TCG TTG TAT CTC CGA AAC CAC TGG ACG/[(3BHQ1)] (Integrated DNA Technologies - IDT-USA) foram usados na reação de PCR, como previamente descrito (Espírito-Santo et al. 2014). Conforme relatado anteriormente (Hamburger et al. 1991), esse conjunto de primers e probe amplificam e detectam um fragmento de 90 pb de uma sequência altamente repetitiva de 121 bp de *S. mansoni* (GenBank, accession number M61098). A reação de amplificação foi realizada conforme detalhado por (Magalhães et al., 2020) em um volume final de 25 µl contendo: 12,5 µl de TaqMan<sup>®</sup> Universal PCR Master Mix (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., USA), 0,1 µM de cada primer de *S. mansoni*, 0,25 µM de probe, BSA 0.1 µg/µL; 4mM MgCl<sub>2</sub>; 4 µl de DNA diluída 1:5 vezes em água. Para cada ensaio, um controle positivo (DNA extraído de vermes adultos adicionados ao mix de reagentes) e controle negativo (mix de reagentes sem DNA) de amplificação foram realizados. A reação de amplificação foi conduzida em StepOnePlus<sup>™</sup> Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) sob o programa de ciclagem universal com 45 ciclos e temperatura de anelamento de 60 ° C. Um fragmento de 92 pb do gene da β-actina humana foi amplificado e detectado como controle interno da reação. O ponto de corte para amostras positivas e negativas foi definido por uma curva padrão estabelecida com o DNA de *S. mansoni* extraído de vermes adultos. Os procedimentos de extração e amplificação do DNA foram realizados

por um pesquisador treinado em salas separadas dentro de um gabinete de segurança biológica, usando pontas descartáveis de pipeta estéril com filtros.

### **5.5 Dignóstico de esquistossomose e determinação de carga parasitária:**

Indivíduos com ovos detectados em qualquer dos testes parasitológicos realizados ou reativos para a qPCR foram considerados positivos. A intensidade da infecção foi calculada através do número médio de ovos de *S. mansoni* encontrados em seis lâminas de Kato-Katz (as duas primeiras lâminas de cada uma das três amostras fecais). Indivíduos que tiveram um resultado positivo para a infecção por *S. mansoni* nos testes parasitológicos qualitativos (Helmintex®, Gradiente Salino e/ou qPCR), mas se apresentaram negativos nas seis lâminas de Kato-Katz foram classificados como infectados com carga parasitária <4 opg.

Uma vez obtida a intensidade de carga parasitária nessa população, categorizamos a quantidade de ovos em  $\leq 12$  ou  $> 12$  ovos por gramas de fezes (OPG), que configura o menor número de ovos obtido ao se considerarmos apenas 2 lâminas analisadas no teste de Kato-Katz, como é comumente realizado nos inquéritos parasitológicos.

### **5.6 Concentração sérica de IgE Total:**

Para medir a concentração de IgE total no soro dos pacientes, foi utilizado um kit comercialmente disponível (Bethyl Laboratories Inc, Montgomery, TX) e os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, placas de 96 poços (Nunc Maxisorp, Nalgel Nunc International, Rochester, NY, USA) foram sensibilizadas com anticorpo purificado anti-IgE humano diluído em tampão 0,1M carbonato-bicarbonato, pH 9,6, por uma hora. Entre cada etapa de incubação as placas foram lavadas 5 vezes com tampão Tris-NaCl (Tris 50 mM, NaCl 0,14M contendo 0,005 % Tween 20, pH 8,0). Após bloqueio da placa com tampão Tris-NaCl acrescido de 1% de albumina bovina (BSA- Sigma), amostras de soro obtidas dos pacientes e diluídas 1:100 em tampão de diluição (Tris-NaCl, pH 8,00 contendo 0,1% BSA) ou amostras com concentrações conhecidas de IgE purificada para curva padrão foram aplicadas à placa e incubadas por 1 h a temperatura ambiente. Após a incubação das amostras e a lavagem da placa, foi adicionado tampão de diluição com o anticorpo de detecção (anti-IgE humana, conjugada a HRP, diluído 1:40.000) e as placas foram novamente incubadas por 1h a temperatura ambiente. Em seguida as placas foram lavadas e a reação revelada com adição da solução de substrato contendo Tetra-metil-benzidina (TMB - One Step, Minneapolis, MN, USA). Após 20 minutos, a reação foi interrompida com solução contendo 4N de

ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e a leitura realizada em leitor de microplacas (modelo Versa Max, Molecular Devices - Sunnyvale, CA) no comprimento de onda de 450 nm. A concentração de IgE nas amostras foi calculada pela interpolação do resultado da leitura de absorbância das amostras na curva padrão.

### **5.7 Reatividade de IgE para alérgenos de poeira doméstica:**

Amostras de soro de todos os indivíduos foram submetidos ao teste imunológico para quantificação de IgE reativo a antígenos de poeira, utilizando kit Dr. Fook - *Specific IgE REAST*, comercialmente disponível. As reações foram realizadas conforme recomendação do fabricante e foi selecionado para os testes uma mistura de alérgenos (HMx3) frequentes na poeira das casas, que inclui antígenos de *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farinae*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, Pêlo de gato, Pêlo de cão.

Para os ensaios imunológicos foram fornecidas microplacas de 96 poços, previamente sensibilizadas com anticorpo anti-IgE humano e bloqueadas. Em cada placa previamente sensibilizada foram testadas amostras controles da reação, que eram constituídas por amostras 50 µl de solução contendo concentrações definidas de IgE humano purificado (6 concentrações diferentes para estabelecer a curva padrão), uma amostra de 50 µl de amostra de soro utilizada como controle positivo e uma amostra 50µl de soro controle negativo, e nos outros poços foram adicionados 50 µl de soro não diluído dos pacientes do estudo. As amostras foram incubadas por 1 h para capturar IgE total presente e as placas foram lavadas três vezes com solução de lavagem fornecida pelo kit, após diluição apropriada em água destilada. Posteriormente, foram adicionados 100 µl do alérgeno (HMx3) conjugado a biotina nos poços contendo amostras de soro e 100 µl de solução contendo anticorpo anti-IgE conjugado com biotina na curva padrão, e as placas foram incubadas por mais uma hora a temperatura ambiente. Os poços foram novamente lavados três vezes e 100 µl do conjugado streptavidina/peroxidase (HRP) foram adicionados e incubado por 30 min. Após nova lavagem, a reação foi revelada com adição de 100 µl/poço da solução de substrato contendo Tetra-metil-benzidina (TMB). A reação foi interrompida após 20 min pela adição de 100 µl de solução 4N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e a intensidade da cor foi medida espectrofotometricamente a 450nm (Molecular Devices - Versa Max). As concentrações do IgE específico da amostra de cada paciente foram estimadas com base na reatividade da curva padrão e foram expressas como valor total ou categorizada como sugerido pelo ensaio em não detectado (<0.35 UI/ml), baixo (0.35 – 0.7 UI/ml), moderado (0.7 – 3.5 UI/ml), claramente positivo (3.5 – 17.5 UI/ml), positivo forte (17.5 – 50 UI/ml), positivo muito forte (50 – 100 UI/ml) e extremamente positivo (>100 UI/ml). Todos os pacientes com reatividade acima de 0.35 UI/ml foram considerados atópicos ou reativos.

## 5.8 Análise de citocinas e quimiocinas:

Concentração de citocinas pro-inflamatórias, tais como interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , quimiocinas e citocinas de tipo 1/17, IL-27, CXCL-10, CCL3, IL-17, Tipo 2 e regulatórias, IL-10, IL-5, IL-13, IL-33, CCL5, CCL11, CCL17 foram estimadas no soro de cada participante usando um kit de ensaio imunoenzimático (ELISA) sanduíche, de acordo com as instruções do fabricante (DuoSet, R&D Systems, EUA). No primeiro momento, as microplacas de 96 poços (Half-Area, Corning e Port Elizabeth, África do Sul) foram sensibilizadas por 18 h a 4 °C (overnight) com Tampão de PBS (pH 7,4) contendo anticorpo de captura específico para a citocina/quimiocina alvo. No dia seguinte, as microplacas foram lavadas 3 vezes com PBS contendo 0,05 % de Tween-20 e bloqueadas PBS contendo 1 % albumina bovina (BSA, Sigma). Após o bloqueio, foi adicionado 25 $\mu$ l do padrão contendo concentrações conhecidas das citocinas/quimiocinas ou das amostras de soro dos pacientes diluídos (concentração 1:2) em tampão de diluição (PBS contendo 0,1 % BSA) e as placas foram incubadas por 2 h a temperatura ambiente. Após a lavagem, a presença das citocinas/quimiocinas nas placas foi detectada pela adição de tampão de diluição contendo o anticorpo anti-citocina conjugado com biotina, na diluição recomendada pelo fabricante e as placas foram incubadas por mais 2 horas. Após a lavagem, foi adicionado 25 $\mu$ l de PBS/ BSA contendo estreptavidina conjugada com peroxidase às placas e o material foi incubado por 20 min em local abrigado de luz. Em seguida as placas foram lavadas e a reação revelada com adição da solução de substrato contendo Tetra-metil-benzidina (TMB –Sigma, Minneapolis, MN, USA). Após 20 minutos, a reação foi interrompida com solução contendo 4N de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e a leitura realizada em leitor de microplacas (Molecular Devices - Versa Max) no comprimento de onda de 450 nm. A concentração das citocinas/quimiocinas nas amostras foi calculada pela interpolação do resultado da leitura de absorbância das amostras com a curva padrão.

## 5.9 Processamento e análise de dados:

Foi gerado um banco de dados no excel, contendo informações das variáveis coletadas ao longo do estudo. O banco foi composto de variáveis demográficas, socioeconômicas, mediadores imunológicos, status parasitário e reatividade alérgica de cada indivíduo. Variáveis categóricas foram comparadas usando teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), médias foram comparadas usando teste t student ou análise de variância (ANOVA), e o teste de Kruskal Wallis foi usado para comparar medianas. Análises de correlação foram usadas para quantificar a associação entre variáveis contínuas. Modelos de regressão logística foram usados para avaliar a relação entre infecção por *S. mansoni* e variáveis

demográficas, sócioeconômicas e imunológicas antes e após um ano de tratamento e também um modelo utilizando reatividade do IgE contra alérgenos de poeira doméstica (Reativos e não reativos) como variável resposta versus as variáveis analisadas. A força de associação foi avaliada usando a odds ratio (OR) com 95% de intervalo de confiança (IC). Variáveis com valor de  $p < 0,25$  foram selecionadas na análise univariada para construir um modelo de regressão logística multivariado. Variáveis com baixa frequência e que apresentaram co-linearidade foram excluídas das análises multivariadas. Para variáveis com mais de duas categorias foram usados como valores de referência indivíduos negativos para a infecção ou níveis indetectáveis de citocinas/quimiocinas associadas. Para definir o modelo final com melhor ajustamento, foi usado o teste de likelihood (Hosmer and Lemeshow, 1989). Para os dados coletados durante o segmento do estudo após o tratamento com anti-helmintico, foram sendo empregadas as mesmas análises univariadas, seguidas do desenvolvimento de análises multivariadas de regressão logística, ajustadas por idade.

## **RESULTADOS:**

Para facilitar a compreensão e discussão dos resultados deste estudo, separamos os dados obtidos em 3 capítulos independentes. No primeiro capítulo foi avaliado fatores socioeconômicos, demográficos e imunológicos associados a esquistossomose nos residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo. No segundo capítulo estão os dados referentes ao estudo da reatividade alérgica à alérgenos comuns na poeira doméstica nestes mesmos indivíduos e sua relação com esquistossomose e resposta imunológico. Finalmente, no terceiro capítulo apresentamos os dados referentes à esquistossomose e à reatividade alérgica nesta população, um ano após o tratamento com Praziquantel.



## 6. CAPÍTULO 1

---

### **Fatores de risco associados a ocorrência da esquistossomose em residentes de Brejo do Amparo, Januária - Minas Gerais**

Indivíduos residentes na comunidade rural de Brejo do Amparo, município de Januária – MG foram convidados a participar do estudo de base populacional que visa avaliar aspectos relacionados à transmissão e diagnóstico da esquistossomose na área. Do total de 270 residentes, 257 indivíduos concordaram com estudo, e forneceram amostras de fezes que foram utilizadas para realização de uma combinação de testes parasitológicos, incluindo Kato-Katz, Helmintex, Gradiente Salino e HPJ, e o teste molecular q-PCR que, em conjunto, permitiu diagnóstico da esquistossomose, mesmo em indivíduos infectados com baixa carga parasitária. Esta mesma população foi convidada a responder questionários com informações socioeconômicas, demográficas e clínicas relacionadas à esquistossomose e a fornecer amostra de sangue, que foi utilizado para realização de hemograma e para quantificar alterações imunológicas através de testes de ELISA para determinação dos níveis séricos de citocinas e quimiocinas. Mais da metade dos participantes (54,4%) foram identificados como infectados para *S. mansoni*, sendo que 108 deles eliminavam menos que 12 ovos por grama de fezes (OPG), caracterizando essa área como de alta prevalência, mas com baixa intensidade de infecção. Foi verificado que a população avaliada consiste de um grupo bastante homogêneo, submetidos a condições sanitárias e socioeconômicas bastante semelhantes e precárias, impactando de forma semelhante a transmissão da esquistossomose em toda comunidade. Com relação às alterações imunológicas, foi possível observar que a frequência de respondedores para a citocina IL-17 ( $P=0,027$ ) e a concentração sérica de CCL3 ( $P=0,0033$ ) foram significativamente maiores entre os indivíduos infectados por *S. mansoni* em comparação aos não infectados por este trematódeo, enquanto que indivíduos infectados com carga  $\leq 12$  OPG apresentaram níveis séricos significativamente maior de IL-27 (0,0061), que os infectados com carga menor. Alguns indivíduos infectados com carga baixa apresentaram níveis séricos detectáveis de IL-10 e IL-5 não observados nos indivíduos com carga parasitária maior. Os modelos de regressão logística demonstraram que os residentes com níveis séricos detectáveis de IL-17 têm cerca de uma cinco vezes mais chances de estarem infectados com *S. mansoni* e indivíduos com idade superior a 40 anos mostram chance cerca de 5 vezes menor de apresentar infecção mais intensa.

## 6.1 Caracterização da população de estudo

No momento da coleta de dados, a comunidade rural de Brejo do Amparo possuía aproximadamente 270 residentes. Dentre estes, 257 indivíduos, de 53 famílias, foram elegíveis para participar no estudo, sendo que 49% eram homens e 51% mulheres, com mediana de 32 anos de idade (intervalo interquartil 15–50 anos) e maior distribuição nas faixas etárias de 21 a 40 e 41 a 60 anos (Tabela 1). A maioria dos indivíduos (82%) declararam ter contato frequente com a água dos córregos e solo, que são as principais fontes de contaminação das helmintoses detectadas na área. Além disso, toda comunidade avaliada no estudo não tem acesso à água tratada ou tratamento de esgoto; a maioria das residências utilizam a água do rio para beber (60,4%), e grande parte do esgoto é descartada em fossas rudimentares (88,6%). Dentre os residentes maiores de 20 anos de idade, que quiseram/souberam responder as questões de escolaridade e renda, apenas 8 (6,2%) tinham ensino superior completo, e a maioria (76,9%) declararam receber menos de 1 salário mínimo.

**Tabela 1:** Caracterização demográfica e socioeconômica de residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária MG, Brasil.

Variáveis	Categoria	Número (%)
<b>Gênero<sup>1</sup></b>	Homem	112 (48,9)
	Mulher	117 (51,1)
<b>Faixa etária<sup>1</sup></b>	≤10	38 (16,6)
	11-20	43 (18,8)
	21-40	61 (26,6)
	41-60	60 (26,2)
	>60	27 (11,8)
<b>Nível educacional<sup>2</sup></b>	Analfabeto/semialfabetizado	28 (21,9)
	Ensino médio	92 (71,8)
	Ensino superior	8 (6,2)
<b>Salário<sup>2</sup></b>	<1 salário mínimo	40 (76,9)
	≥1 salário mínimo	12 (23,1)
<b>Abastecimento de água<sup>3</sup></b>	Poço artesiano	21 (39,6)
	Rio/córrego	32 (60,4)
<b>Distribuição de esgoto<sup>3</sup></b>	Fossa rudimentar	47 (88,6)
	Não sabe	6 (11,4)

<sup>1</sup> Variáveis avaliadas no questionário individual (229 residentes);

<sup>2</sup> Variáveis avaliadas no questionário individual excluindo residentes abaixo de 20 anos de idade (169 residentes, mas nem todos souberam/quiseram responder);

<sup>3</sup> Variáveis avaliadas no questionário familiar (53 residências).

Entre os 257 participantes, 77 (29,9%) indivíduos não apresentaram infecção parasitária detectável pelo exame de fezes. O exame de fezes pelo método parasitológico HPJ revelou quatro indivíduos eliminando cistos de *Giardia lamblia*, nove com cistos de *Entamoeba histolytica/dispar* e 72 com cistos de protozoários comensais (Tabela 2).

Para garantir um diagnóstico mais preciso de esquistossomose, múltiplos métodos parasitológicos de exame de fezes (Kato-Katz, Saline Gradient, Helmintex) e o método molecular (qPCR) foram aplicados. A combinação de métodos identificou 140 (54,4%) indivíduos com infecção por *S. mansoni*, e destes 48 estavam coinfectados com nematódeos ou com protozoários intestinais. A análise parasitológica também identificou 23 indivíduos eliminando ovos de ancilostomídeos e destes 15 estavam coinfectados com *S. mansoni*. Houve também 6 casos de *Enterobius vermicularis*, sendo 4 coinfectados com *S. mansoni*, um caso de *Trichuris trichiura* e um de infecção por *Strongyloides stercoralis* (Tabela 2).

Tabela 2: Status de infecção parasitária estabelecida pela combinação de testes de diagnósticos, em residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária MG, Brasil.

Status de Infecção Parasitária	Nº de infectados /Total	%Prevalência (IC95%)	Coinfecção com <i>S. mansoni</i>	%Prevalência (IC)
Protozoários comensais <sup>1</sup>	72/249	28,9 (23,6 - 34,8)	23/249	9,2 (6,2 - 13,5)
<i>Giardia lamblia</i>	4/249	1,6 (0,6 - 4,1)	1/249	0,4 (0,1 - 2,2)
<i>Entamoeba histolytica/díspar</i>	9/249	3,6 (1,9 - 6,7)	5/249	2,0 (0,9 - 4,6)
<i>Schistosoma mansoni</i>	140/257	54,5 (48,4 - 60,5)	-	-
Ancilostomídeo	23/257	8,9 (6,0 - 13,1)	15/257	5,8 (3,6 - 9,4)
<i>Enterobius vermicularis</i>	6/257	2,3 (1,1 - 5,0)	4/257	1,2 (0,4 - 3,4)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1/257	0,4 (0,1 - 2,1)	-	-
<i>Trichuris trichiura</i>	1/257	0,4 (0,1 - 2,1)	-	-

<sup>1</sup> *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba Butchilii*, *Blastocystis hominis*.

## 6.2 Perfil socioeconômico e demográfico dos indivíduos infectados por *S. mansoni* entre residentes da comunidade de Brejo do Amparo:

Conforme dado apresentado na tabela 3, na população de estudo, a prevalência da infecção por *S. mansoni* não foi significativamente associada com as variáveis demográficas e socioeconômicas analisadas, incluindo gênero, nível educacional, renda e tipo de abastecimento de água e esgoto. Nesta população também não alteração significativa da prevalência da infecção por *S. mansoni* entre indivíduos com infecção por nematódeos intestinais (Tabela 3).

**Tabela 3:** Relação de fatores socioeconômicos, demográficos e de coinfeção com a infecção por *S. mansoni* em residentes do distrito de Brejo do Amparo, Januária, Minas Gerais.

Variáveis	Sm (-) n(%)	Sm (+) n(%)	OR (IC95%)	p valor
<b>Gênero<sup>1</sup></b>	<b>n= 117</b>	<b>n= 140</b>		
Feminino	64 (54,7)	71 (50,7)	1	
Masculino	53 (45,3)	69 (49,3)	1,17 ( 0,71-1,92)	0,52
<b>Faixa etária<sup>1</sup></b>	<b>n= 117</b>	<b>n= 140</b>		
≤10	23 (19,7)	18 (12,9)	0,62 (0,28 – 1,35)	0,23
11 - 20	19 (16,2)	28 (20,0)	1,16 (0,55 – 2,48)	0,69
21 - 40	30 (25,6)	38 (21,1)	1	-
≥41	45 (38,5)	56 (40,0)	0,98 (0,53 – 2,88)	0,90
<b>Nível Educacional<sup>1</sup></b>	<b>n= 64</b>	<b>n= 64</b>		
Analfabeto/semialfabetizado	21 (45,7)	25 (54,4)	1	
Ensino médio e superior	67 (46,5)	77 (53,5)	0,96 (0,50-1,88)	0,93
<b>Salário<sup>2</sup></b>	<b>n= 33</b>	<b>n= 29</b>		
> 1 Salário mínimo	24 (72,7)	21 (72,4)	1	
≤1 Salário mínimo	9 (27,3)	8 (27,6)	1,16 (0,69-1,92)	0,97
<b>Abastecimento de água<sup>2</sup></b>	<b>n= 10</b>	<b>n= 43</b>		
Rio/Córrego	9 (90,0)	38 (88,4)	1	
Poço artesiano	1 (10)	5 (11,6)	0,84 (0,87 – 8,14)	0,88
<b>Distribuição de Esgoto<sup>2</sup></b>	<b>n= 10</b>	<b>n= 43</b>		
Fossa Rudimentar	4 (40,0)	17 (39,5)	1	
Não Sabe	6 (60,0)	26 (60,5)	1,02 (0,25 – 4,16)	0,97
<b>Infecção Nematódeos</b>	<b>n= 117</b>	<b>n= 140</b>		
Negativos	105 (89,7)	122 (87,1)	1	
Positivos	12 (10,3)	18 (12,8)	1,29 (0,59 – 2,80)	0,51

<sup>1</sup>Questionário individual excluindo residentes abaixo de 20 anos de idade.

<sup>2</sup>Questionário familiar.

Teste do qui-quadrado seguido de regressão logística.

### 6.3. Possíveis associações entre a presença de infecção por *S. mansoni* e as alterações imunológicas detectadas em residentes da comunidade de Brejo do Amparo

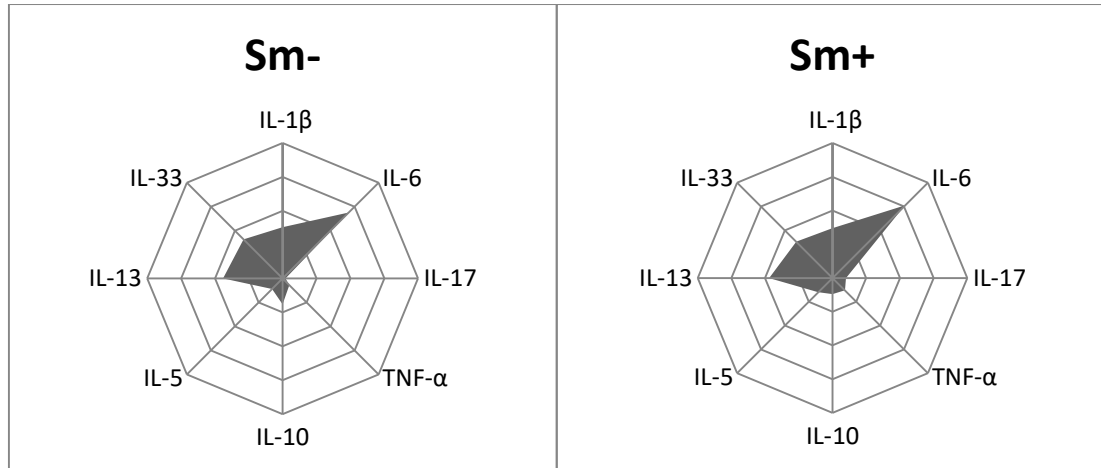
As análises imunológicas foram realizadas em amostras de soro dos indivíduos, e apenas indivíduos entre 5 e 75 anos forneceram amostra de sangue, totalizando 207 indivíduos da população de estudo. Além disto, não foram todos os participantes que apresentaram volume de soro necessário para todos os testes. Assim, o total de indivíduos testados em cada ensaio está descrito na Tabela 4. Grande parte dos indivíduos da população de estudo não apresentaram níveis séricos detectáveis para alguns mediadores imunológicos avaliados, especialmente citocinas. Desta forma, para estes mediadores a frequência de indivíduos com níveis séricos detectáveis foi comparativamente examinada entre os indivíduos infectados por *S. mansoni* (exame parasitológico positivo e/ou molecular reativo) ou não infectados na comunidade rural de Brejo do Amparo. Nossos dados mostraram que a frequência de respondedor para a citocina IL-17 foi significativamente maior ( $p=0,027$ ) entre os indivíduos infectados com *S. mansoni* em relação aos não infectados. Por outro lado,

não houve diferença significativa na frequência de respondedor para IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-5, IL-13 e IL-33 entre os indivíduos infectados por *S. mansoni* e não infectados desta população. A frequência de respondedor para as citocinas TNF- $\alpha$  e IL-10 entre infectados e não infectados, tiveram valor de p menor ou igual de 0,25, sendo então utilizadas para a confecção do modelo multivariado final, juntamente com IL-17 (Tabela 4/figura 3).

**Tabela 4:** Prevalência de infecção por *S. mansoni* e moduladores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Citocinas/Quimiocinas	Sm (-)	Sm (+)	OR (IC95%)	p-valor
<b>IL-1<math>\beta</math> (n = 207)</b>				
Indetectável	59 (62,1%)	71 (63,4%)	1	0,849
Detectável	36 (37,9%)	41 (36,6%)	0,94 (0,53 – 1,66)	
<b>IL-6 (n = 201)</b>				
Indetectável	28 (30,7%)	26 (23,6%)	1	0,256
Detectável	63 (69,3%)	84 (76,4%)	1,4 (0,76 – 2,68)	
<b>IL-17 (n = 205)</b>				
Indetectável	90 (97,8%)	102 (90,3%)	1	<b>0,027</b>
Detectável	2 (2,2%)	11 (9,7%)	4,85 (1,04 – 22,48)	
<b>TNF-<math>\alpha</math> (n = 202)</b>				
Indetectável	85 (93,4%)	97 (87,4%)	1	<b>0,154</b>
Detectável	6 (6,6%)	14 (12,6%)	2,04 (0,75 – 5,55)	
<b>IL-10 (n = 176)</b>				
Indetectável	75 (81,5%)	98 (88,3%)	1	<b>0,176</b>
Detectável	17 (18,5%)	13 (11,7%)	0,58 (0,26 – 1,27)	
<b>IL-5 (n = 179)</b>				
Indetectável	72 (88,9%)	83 (84,7%)	1	0,412
Detectável	9 (11,1%)	15 (15,3%)	1,44 (0,59 – 3,50)	
<b>IL-13 (n = 177)</b>				
Indetectável	45 (56,3%)	51 (52,6%)	1	0,625
Detectável	35 (43,7%)	46 (47,4%)	1,15 (0,63 – 2,10)	
<b>IL-33 (n = 185)</b>				
Indetectável	51 (59,3%)	62 (62,6%)	1	0,644
Detectável	35 (40,7%)	37 (37,4%)	0,86 (0,48 – 1,57)	

Teste do qui-quadrado seguido de regressão logística.



**Figura 3:** Gráfico de radar ilustrando a frequência de respondedores para citocinas IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-5, IL-13 e IL-33 no soro de indivíduos (A) não infectados por *Schistosoma mansoni* (Sm-) ou (B) infectados pelo parasito (Sm+) entre os residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária – MG.

Os dados dos mediadores imunológicos com níveis séricos detectáveis em todos os indivíduos testados foram analisados como variáveis contínuas, sendo apresentado os valores da mediana do grupo com o intervalo de confiança (Tabela 5). Os dados da tabela 5 demonstram que indivíduos infectados por *S. mansoni* apresentam nível sérico de CCL3 significativamente maior que os não infectados (6785 pg/mL versus 3360 pg/ml,  $p=0,003$ ). Os níveis séricos de CCL5 e CCL17 foram marginalmente superiores nos indivíduos infectados e a concentração de IL-27 foi inferior nestes indivíduos ( $p<0,25$ ), sendo então incluídos na confecção modelo multivariado final. Os demais mediadores imunológicos avaliados, como concentração sérica das quimiocinas CXCL10 e CCL11, foram estatisticamente semelhantes nos indivíduos infectados e não infectados.

**Tabela 5:** Relação entre a prevalência de infecção de *S. mansoni*, seus mediadores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Mediadores Imunológicos	<i>S. mansoni</i> (-)		<i>S. mansoni</i> (+)		P valor
	Mediana	IQ*	Mediana	IQ	
IL-27 (pg/ml)	760	378 - 1010	623	341 - 1087	<b>0,2427</b>
CXCL10 (pg/ml)	111	69 - 175	115	77 - 177	0,4345
CCL11 (pg/ml)	73	18 - 152	72	24 - 183	0,8484
CCL5 (pg/ml)	14	8 - 34	17	10 - 48	<b>0,1665</b>
CCL17 (pg/ml)	190	91 - 525	266	131 - 1155	<b>0,0747</b>
CCL3 (pg/ml)	3360	2253 - 11875	6785	3360 - 17225	<b>0,0033*</b>

\*IQ-Interquartil

Teste de Mann-Whitney

A tabela 6 representa os valores de contagem diferencial de células circulantes e a concentração de hemoglobina avaliados pelo hemograma, bem como a concentração de IgE no soro da população

do estudo. A quantidade de eosinófilos circulantes foi marginalmente superior nos indivíduos infectados, sendo então incluído no modelo multivariado final. Os demais mediadores laboratoriais avaliados como a quantidade de hemácias, plaquetas e concentração de hemoglobina e de IgE foram estatisticamente semelhantes na população avaliada.

**Tabela 6:** Relação entre a prevalência de infecção de *S. mansoni* e seus dados hematológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Dados hematológicos	<i>S. mansoni</i> (-)		<i>S. mansoni</i> (+)		<i>P</i> valor
	Mediana	IQ*	Mediana	IQ	
IgE Total (ng/ml)	1739	635 - 3946	1925	930 - 4413	0,3760
Eosinófilo (cél/mm <sup>3</sup> )	354	173 - 626	405	238 - 661	<b>0,0701</b>
Hemoglobinas (g/dL)	136	125 - 147	136	129 - 148	0,6610
Hemácias (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	510	474 - 550	513	475 - 541	0,8862
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	236	187 - 280	240	199 - 296	0,3133

\*IQ-Interquartil

Teste de Mann-Whitney

#### 6.4 Análise multivariada final de Regressão Logística – Evento: Presença da infecção de *S. mansoni*

Na tabela 7 mostramos os resultados da primeira análise multivariada de regressão logística para avaliar o efeito de parâmetros imunológicos e hematológicos na presença de infecção por *S. mansoni*, com dados ajustados por idade.

A partir das análises univariadas, os parâmetros que apresentaram nível de significância  $\leq 0,25$  foram selecionadas para construção do modelo final de regressão logística, ou seja, a concentração sérica de IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , avaliadas de forma categorizadas (frequência de respondedor e não respondedor), e as variáveis contínuas CCL3, CCL5, CCL17, IL-27 e eosinófilos, todas ajustadas por idade (saídas da na análise – Apêndice 1). A análise revela que, em residentes de Brejo do Amparo, a infecção por *S. mansoni* foi positivamente associada com a frequência de respondedores para a citocina IL-17 (0,04), ou seja, indivíduos com níveis detectáveis dessa citocina no soro tiveram cerca de 5 vezes mais chances de estarem infectados por *S. mansoni*.

**Tabela 7:** Modelo multivariado de regressão logística para associação entre prevalência de infecção por *S. mansoni* e mediadores imunológicos.

Variáveis	Infecção por <i>S. mansoni</i>			
	OR bruta (IC)	p-valor	OR ajustada (IC)	p-valor
<b>IL-17 - detect.</b>	4,85 (1,04 – 22,48)	0,027	4,93 (1,06 – 22,89)	0,042

Ajustado por idade, Ref. Idade – 21 a 40 anos.

Ref. Co-variáveis: Não detectável

\*Log likelihood = -137.66673, número de observações = 205

Curva ROC = 0.5802

### 6.5. Possíveis associações entre a intensidade da infecção e alterações imunológicas em indivíduos infectados por *S. mansoni* na comunidade de Brejo do Amparo

Para melhor entender a relação da carga parasitária com as alterações imunológicas, os parâmetros demográficos, hematológicos e imunológicos foram avaliados nos indivíduos da população de estudo infectados por *S. mansoni* que eliminavam  $\leq 12$  ou  $> 12$  ovos p/grama de fezes. Ao se considerar a análise univariada, somente o frequência de respondedor para as citocinas IL-6, IL-10 e IL-5 se mostraram estatisticamente associadas à menor intensidade de carga, sendo mais frequente entre indivíduos positivos para *S. mansoni* com OPG $\leq 12$ . As citocinas IL-1 $\beta$ , IL-17, TNF- $\alpha$  e IL-33 apresentaram  $p \leq 0,25$  e foram utilizadas para confecção do modelo multivariado final (Tab.8/Fig.4).

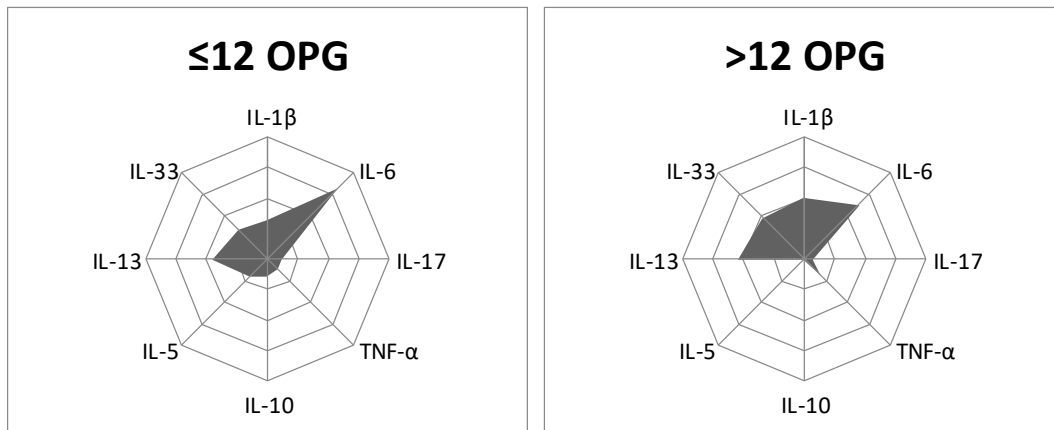
**Tabela 8:** Relação entre intensidade de carga parasitária para *S. mansoni* e moduladores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Citocinas/ Quimiocinas	Intensidade de carga em infectados por <i>S. mansoni</i>			
	$\leq 12$ OPG	$> 12$ OPG	OR (IC95%)	Valor de p
<b>IL1-<math>\beta</math> (n = 112)</b>				
Indetectável	57 (67,8%)	14 (50,0%)	1	<b>0,089</b>
Detectável	27 (32,1%)	14 (50,0%)	NA	
<b>IL-6 (n = 110)</b>				
Indetectável	16 (19,3%)	10 (37,0%)	1	<b>0,059</b>
Detectável	67 (80,7%)	17 (63,0%)	13,84 (1,21 – 58,28)	
<b>IL-17 (n = 113)</b>				
Indetectável	77 (89,5%)	25 (92,6%)	1	0,640
Detectável	9 (10,5%)	2 (7,4%)	0,21 (0,25 – 0,80)	
<b>TNF-<math>\alpha</math> (n = 111)</b>				
Indetectável	75 (89,3%)	22 (81,5%)	1	<b>0,248</b>
Detectável	9 (10,7%)	5 (18,5%)	2,42 (0,80 – 7,32)	
<b>IL-10 (n = 111)</b>				
Indetectável	72 (84,7%)	26 (100%)	1	<b>0,034*</b>
Detectável	13 (15,3%)	0 (0,0%)	NA	
<b>IL-5 (n = 98)</b>				
Indetectável	61 (80,3%)	22 (100%)	1	<b>0,024*</b>
Detectável	15 (19,7%)	0 (0,0%)	NA	
<b>IL-13 (n = 97)</b>				
Indetectável	40 (54,8%)	11 (45,8%)	1	0,446
Detectável	33 (45,2%)	13 (54,2%)	1,4 (0,62 – 3,50)	
<b>IL-33 (n = 99)</b>				
Indetectável	50 (65,8%)	12 (52,2%)	1	<b>0,237</b>
Detectável	26 (34,2%)	11 (47,8%)	1,51 (0,63 – 3,65)	

Teste do qui-quadrado seguido de regressão logística

NA= não aplicável para análise de regressão logística





**Figura 4:** Gráfico de radar ilustrando a frequência de respondedores para citocinas IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-5, IL-13 e IL-33 no soro de indivíduos (A) infectados por *S. mansoni* com baixa carga ( $\leq 12$  OPG) ou (B) infectados pelo parasito com maior carga ( $> 12$  OPG) entre os residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo.

### 6.6 Intensidade de infecção por *S. mansoni* e avaliação de níveis séricos detectáveis de mediadores imunológicos e hematológicos:

Indivíduos positivos para *S. mansoni* com carga parasitária  $> 12$  opg apresentaram significativamente maiores níveis séricos da citocina IL-27 ( $p = 0,0061$ ) em comparação com indivíduos infectados com carga  $\leq 12$  opg (Tabela 9). As quimiocinas CCL11, CCL5, CCL17, CCL3 tiveram um  $p \leq 0,25$ , sendo então incluídas na confecção do modelo multivariado final. Não houve diferença entre os níveis séricos de CXCL10 entre infectados com intensidade  $\leq 12$  ou  $> 12$  OPG.

**Tabela 9:** Relação entre intensidade de carga parasitária de *S. mansoni* e seus mediadores imunológicos na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Mediadores Imunológicos	$\leq 12$ OPG		$> 12$ OPG		P valor
	Mediana	IQ*	Mediana	IQ	
IL-27 (pg/ml)	486	320 - 890	992	522 - 1771	<b>0,0061*</b>
CXCL10 (pg/ml)	122	77 - 165	113	77 - 207	0,7265
CCL11 (pg/ml)	30	1 - 102	23	1 - 47	<b>0,2231</b>
CCL5 (pg/ml)	10862	6987 - 21897	15645	7000 - 51814	<b>0,2429</b>
CCL17 (pg/ml)	249	111 - 1013	356	219 - 2033	<b>0,0917</b>
CCL3	6420	3360 - 17745	8720	3360 - 17210	<b>0,2008</b>

\*IQ-Interquartil

Teste de Mann-Whitney

Na tabela 10 é possível observar os dados hematológicos advindos da análise do hemograma mostram que o número de eosinófilos e hemácias circulantes, bem como a concentração de hemoglobinas e IgE total foram estatisticamente semelhantes entre infectados por *S. mansoni* eliminando menos que 12 OPG e infectados com carga parasitária maior, mas o nível

sérico de plaquetas entre estes grupos atingiu um valor de  $p \leq 0,25$  e será adicionado na montagem do modelo multivariado final.

**Tabela 10:** Relação entre intensidade de carga parasitária de *S. mansoni* e seus dados hematológicas na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Dados hematológicas	$\leq 12$ OPG		$>12$ OPG		P valor
	Mediana	IQ*	Mediana	IQ	
IgE Total (ng/ml)	1820	918 - 4315	2946	948 - 5736	0,3739
Eosinófilo (cél/mm <sup>3</sup> )	430	216 - 653	398	278 - 688	0,5115
Hemoglobinas (g/dL)	136	127 - 149	135	131 - 145	0,8630
Hemácias (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	513	475 - 540	515	470 - 548	0,7838
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	228	192 - 293	269	202 - 330	0,1341

\*IQ-Interquartil

Teste de Mann-Whitney

## 6.7 Análise de Regressão Logística para a intensidade de carga parasitária em infectados para *S. mansoni*

A tabela 11 apresenta os resultados do segundo modelo de análise multivariada, no qual foi realizada uma regressão logística para avaliar o efeito de parâmetros demográficos, imunológicos e hematológicos na intensidade de infecção por *S. mansoni*, que foi categorizada em indivíduos infectados eliminando menos ou mais 12 OPG (saídas da análise – Apêndice 1). Na população de estudo, onde a grande maioria dos indivíduos infectados apresentaram baixa carga parasitária, a regressão logística demonstra que parâmetros imunológicos e hematológicos avaliados no presente estudo não foram associados à intensidade de infecção, mas indivíduos com idade superior a 40 anos mostram chance cerca de cinco vezes menor de apresentar infecção com carga superior a 12 OPG (Tabela 11).

**Tabela 11:** Regressão logística para associação entre intensidade de carga categorizada em  $\leq 12$  ou  $>12$  OPG em infectados por *S. mansoni*.

Variáveis	Intensidade de carga em infectados por <i>S. mansoni</i> ( $\leq 12 > OPG$ )			
	OR bruta (IC)	z	p-valor	IC
Idade ( $\leq 10$ anos)	0,51	-1.22	0.221	0.17 – 1.49
Idade (11–19 anos)	0,31	-1.65	0.098	0.75 – 1.24
Idade ( $>40$ anos)	0.22	-2.90	0.004*	0.07 – 0.61

Log likelihood = -91.829123

Curva ROC = 0.6541

Ref. Idade: 21 a 40 anos

## 6.8 DISCUSSÃO

Estudos de base populacional têm sido realizados para determinar o papel dos fatores de risco ambientais, na tentativa de encontrar padrões e heterogeneidade no risco de infecção pela esquistossomose (Lai et al., 2015, Walz et al., 2015; McManus et al., 2018). Nessa etapa, realizamos um estudo transversal em residentes de Brejo do Amparo, área rural do município de Januária/MG, objetivando compreender possíveis associações de fatores demográficos, socioeconômicos, hematológicos e imunológicos com a presença e intensidade da infecção por *S. mansoni*. A combinação de testes diagnósticos permitiu caracterizar essa população como de alta prevalência para *S. mansoni* (54,4%), mas baixa intensidade de carga parasitária. Nossas análises estatísticas revelaram que os fatores socioeconômicos e demográficos avaliados foram semelhantes entre infectados e não infectados por *S. mansoni* na comunidade rural avaliada no presente estudo. Na nossa opinião, a ausência de associação entre infecção e fatores como idade, escolaridade e renda pode ser justificado pela homogeneidade do grupo estudado, confirmada nas vistas de campo. Trata-se de residentes de uma área com pequena extensão territorial, sob as mesmas características ambientais, culturais e base econômica.

O estudo de campo realizado no distrito de Brejo do Amparo propiciou conhecer melhor a realidade dessa população, evidenciando condições inadequadas de infraestrutura sanitária. A comunidade rural não tem acesso à tratamento de água e esgoto, e a maioria dos residentes (82%) declararam utilizar a água dos córregos e ter contato constante com o solo para atividades diárias, que são as principais fontes de contaminação das helmintoses detectadas na área. O esgoto é, em grande parte, descartado em fossas rudimentares (88,6%), que podem facilmente contribuir para contaminação ambiental. Quase 80% dos participantes declararam não ter alfabetização ou ter apenas o ensino fundamental e mais de 60% recebem apenas um salário mínimo ou menos. Toda a comunidade está inserida em uma área de pequena extensão, sob semelhantes influências ambientais, culturais e socioeconômicas, sendo altamente vulneráveis a doenças infecciosas. De acordo com os trabalhos publicados por Grimes et al., (2014) e McManus et al., (2018), a precariedade de saneamento e higiene e falta de acesso à água limpa, associados a realização frequente de atividades que envolvam contato com a água, seja para fins doméstico, recreativo ou profissional, coloca toda população em risco de infecção por esquistossomose e enteroparasitoses.

Nessas comunidades com baixo poder aquisitivo, infecções parasitárias têm, de forma geral, uma prevalência elevada, sendo uma ameaça grave para a saúde e desenvolvimento das crianças, estando associadas com redução da atividade física e capacidade de aprendizagem prejudicada

(Gonçalves et al., 2011; Assis et al., 2013; McManus et al., 2018). Em Brejo do Amparo não foi diferente, a prevalência geral de helmintos e protozoários intestinais foi de 70,4%, resultado bastante elevado em comparação com outros estudos de prevalência de parasitoses realizados em Minas Gerais (dos Santos et al., 2012; Rocha et al., 2000). Essa alta prevalência de parasitoses em Brejo do Amparo pode estar relacionada a fatores associados a alta concentração de indivíduos nos domicílios, bem como negligência dentro do atual contexto de crise econômica e política, com consequente privação de condições sanitárias adequadas (Assis et al., 2013). Além disso, é importante ressaltar que para diagnóstico dos indivíduos positivos foi utilizada uma combinação de quatro testes parasitológicos diretos (Sedimentação Espontânea, Gradiente Salino, Helmintex® e Kato-Katz), aumentando assim a sensibilidade desses exames. Essa combinação de testes é de grande importância para não subestimar a real frequência de parasitoses em estudos populacionais, visto as diversidades biológicas e estruturais de cada parasito, necessitando assim de métodos diferentes para sua detecção (King et al., 2013; Saugar et al., 2015).

Outro fator que pode ter contribuído para a elevada prevalência de infecções parasitárias nesse distrito é o grau de escolaridade, visto que apenas 6,2% dos residentes possuem ensino superior. De acordo com um trabalho realizado com escolares de Teerã, por Nematian e colaboradores (2004), o aumento no nível de escolaridade dos pais diminuiu as infecções parasitárias em até 20%, concluindo que existe uma grande relação entre o nível educacional dos pais e a taxa de infecções, sugerindo que certas práticas de cuidados infantis de higiene sejam melhores quando os pais recebem um maior nível de educação.

Dentre as infecções diagnosticadas pelos testes parasitológicos, a infecção causada pelo trematódeo *S. mansoni* foi a mais frequente, com prevalência de 54,4% em Brejo do Amparo. A prevalência observada é muito maior do que os ~20% estimados pelas autoridades de saúde locais (Ruas et al., 2013). A elevada prevalência de esquistossomose nesta comunidade era esperada, visto que a comunidade estudada está localizada na região norte de Minas Gerais, área historicamente endêmica para a esquistossomose do país (Katz & Almeida, 2003; Gazzinelli et al., 2006). O conjunto de procedimentos diagnósticos aqui utilizados, permitiram identificar 108 indivíduos infectados com carga parasitária muito baixa, que não seriam identificados utilizando-se como ferramenta diagnóstica apenas o exame de fezes pela técnica de Kato-Katz. O uso de técnicas diagnósticas mais sensíveis promoveu uma estimativa mais realista da prevalência de esquistossomose na área, e também evidenciou o perfil de infecção pelo trematódeo como de baixa intensidade de carga parasitária (mediana = 4 opg), de acordo com a classificação da OMS (2014). A redução da carga parasitária é consequência da mudança do cenário epidemiológico da esquistossomose, oriundo principalmente das ações promovidas pelo PCE, que tem como eixo central o tratamento dos indivíduos infectados com

Praziquantel, cuja ação não protege contra reinfecções nem afeta a viabilidade dos ovos e formas imaturas do parasito (Scholte et al., 2012; Grenfell *et al.*, 2014). De acordo com Novato-Silva et al., (1992) e Attallah et al., (2003), indivíduos de área endêmica também sofrem exposição intrauterina a antígenos de *S. mansoni*, devido à infecção materna, ou mesmo após o nascimento através do leite materno, fato que pode acarretar em uma resposta modulatória contribuindo para a sobrevivência do verme e manutenção de seu ciclo, diferente do observado fora da área endêmica. Assim, apesar dos indivíduos apresentarem baixa carga parasitária, a exposição a infecção e reinfecção é frequente, contribuindo para os níveis de prevalência elevado que observamos no presente estudo. Também é importante ressaltar a importância do tipo de seleção da população de estudo para o perfil de infecção observado, ou seja, este foi um estudo de base populacional em área endêmica e não em hospitais ou outros locais que poderiam viciar a amostragem, selecionando apenas indivíduos com sintomas e possivelmente maior carga parasitária.

A prevalência da esquistossomose não apresentou diferenças significativas entre gênero e faixa etária na população avaliada. Alguns estudos publicados (Enk et al, 2010; El-Sayed et al, 2014) evidenciam uma maior prevalência de infecção por *S. mansoni* em indivíduos do sexo masculino, provavelmente devido às atividades na agricultura que são mais frequentes entre os homens em áreas rurais, resultando em aumento na exposição à infecção ao parasita e não necessariamente à diferença de suscetibilidade entre gêneros (Kloss et al., 2008). Além da relação com a combinação diagnóstica altamente sensível para identificar pacientes verdadeiramente negativos, a semelhança da prevalência de esquistossomose entre indivíduos das diferentes faixas etárias e gênero também pode ser justificada pelo fato de todos os residentes alegaram utilizar a água do riacho para atividades domésticas e lazer.

Entretanto, apesar da prevalência de esquistossomose ser semelhante nas diferentes faixas etárias, os indivíduos mais velhos (>40 anos) apresentaram menor intensidade de carga parasitária. Trabalhos desenvolvidos em áreas endêmicas para esquistossomose também relatam essa diferença entre idades na população, onde a primo-infecção frequentemente ocorre na primeira infância, atingindo maior prevalência em jovens e adolescentes, tendendo a diminuir na idade adulta (Conceição & Coura, 1978; Coura-Filho *et al.*, 1995; Fleming *et al.*, 2006; Colley *et al.*, 2014). Infecções sucessivas contribuem para o desenvolvimento de mecanismos imunoprotetores que, apesar de não gerar uma proteção absoluta às reinfecções, podem resultar em infecções com menor intensidade de carga, dificultando a identificação desses pacientes devido a falta de sensibilidade dos testes de diagnóstico utilizados. Isto pode ser essencial para justificar a permanência da transmissão do parasito nestas áreas.

O helminto *S. mansoni* possui uma interação altamente complexa com o sistema imunológico do homem, e para avaliar essa relação nos residentes de Brejo do Amparo, quantificamos tipos

celulares sanguíneos e medimos a concentração de diferentes mediadores imunológicos em amostras de soro. O tipo e intensidade de resposta imune no hospedeiro é um fator determinante na morbidade da doença, e está intimamente associado à frequência e tempo de infecção pelo parasito, estado nutricional e comorbidades (Colley et al., 2014; Deslyper et al., 2019; McManus et al., 2020). As variáveis imunológicas e hematológicas, foram avaliadas separadamente e em conjunto através da construção de dois modelos de análise multivariada, considerando em primeiro momento a prevalência de *S. mansoni* em toda a população estudada, e em segundo momento a intensidade de carga parasitária na população infectada, categorizada em  $\leq 12$  e  $> 12$  OPG.

Nossos dados da análise univariada demonstraram que as citocinas IL-17 e TNF- $\alpha$  foram mais frequentemente detectadas no soro de indivíduos infectados com *S. mansoni*, sugerindo que, em áreas com frequente exposição ao helminto, o indivíduo infectado, mesmo com baixa carga parasitária, é capaz de produzir uma resposta de perfil pró-inflamatório. A associação entre infecção por *Schistosoma* e produção de IL-17 já é sabidamente estabelecida em modelos experimentais, nos quais a produção de citocinas é um indicador de imunopatologia grave e fibrose hepática (Rutitzky et al., 2011; Wang et al., 2015). Além disso, a frequência de células Th17 é positivamente associada com a gravidade da patologia da bexiga nas populações humanas infectadas com *S. haematobium* (Mbow et al., 2013). Essa citocina foi a única que se manteve positivamente associada à infecção por *S. mansoni* no modelo final, que demonstra que, nesta comunidade, os indivíduos com níveis detectáveis de IL-17 soro apresentam até 5 vezes mais chances de estar infectado por *S. mansoni*. Essa citocina é conhecida por seu perfil patogênico, que contribui para reações inflamatórias, fibrosantes e granulomatosas na esquistossomose (Nady et al., 2017; Santana et al., 2021). Um estudo recente demonstrou o potencial do IL-17 na indução de mediadores pró-inflamatórios como IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF $\alpha$  que foram significativamente reduzidos em camundongos infectados que tiveram o IL-17 bloqueado por tratamento com anticorpos monoclonais anti-IL-17 (Zaalouk et al., 2020). TNF- $\alpha$ , embora sabidamente envolvido na resposta inflamatória e intensidade de carga parasitária (Shahat et al. 2007, Fernandes et al., 2014), não permaneceu associado à infecção nos modelos multivariados de regressão logística empregado no presente estudo, o que pode refletir as características da baixa carga parasitária dessa área de transmissão. O mesmo ocorreu com a frequência aumentada de respondedores para as citocinas IL-10 e IL-5 nos infectados com carga parasitária  $\leq 12$  opg, não havendo níveis detectáveis dessas citocinas em pacientes infectados com carga  $> 12$ , o que inviabiliza sua análise por regressão logística. Vale ressaltar que a quantificação dessas citocinas pode estar subestimada visto que foram realizadas através de amostras sorológicas que em geral contém poucas citocinas circulantes de perfil regulatório, visto que estas são em grande parte recrutadas para os sítios de infecção durante o processo inflamatório, mantendo níveis basais dessas citocinas na circulação sistêmica.

As quimiocinas apresentaram níveis de detecção em todos os indivíduos da população de estudo, permitindo sua análise de forma contínua. Dentre as cinco quimiocinas avaliadas, somente a CCL3 apresentou diferenças significativas, com maior intensidade de detecção em indivíduos positivos para *S. mansoni*, mas não permaneceu associada ao modelo multivariado final. Estudos recentes revelam que associação entre altas concentrações de CCL3 e indivíduos infectados por esquistossomose grave (Sousa-Pereira et al., 2006, Souza et al., 2008). O trabalho de Rodrigues-Oliveira et al. (2018) demonstra a importância dessa quimiocina pró-inflamatória em modelo murino para a formação e modulação da inflamação granulomatosa induzida por esquistossomose, entretanto é relatada a dificuldade de se estabelecer relação em indivíduos infectados naturalmente. Nesse trabalho a concentração plasmática de CCL3 em indivíduos infectados com *S. mansoni* foi positivamente associada a parâmetros de morbidade da doença, embora a população avaliada seja descrita como de baixa carga parasitária (mediana= 32), esta é consideravelmente mais alta que nos residentes avaliados em Brejo do Amparo. Em outro estudo desenvolvido por nosso grupo com essa população, a quimiocina CCL3 quando categorizada se manteve positivamente associada à esquistossomose no modelo final que avaliou o efeito da Leishmaniose Tegumentar Americana na susceptibilidade e resposta imune de *S. mansoni* (Miranda et al., 2021).

Para o modelo multivariado final que considerou a intensidade de carga parasitária como variável resposta, a única variável associada foi a faixa etária, apresentando relação inversa entre residentes com idade  $\geq 40$  anos e carga de *S. mansoni*  $> 12$  OPG. Esse resultado corrobora o que estudos de base populacional já relataram sobre a tendência de a infecção diminuir na idade adulta em populações de áreas endêmicas (Conceição & Coura, 1978; Coura-Filho et al., 1995; Fleming et al., 2006; Colley et al., 2014).

## 7 - CAPÍTULO 2

### **Modulação da reatividade alérgica em humanos é dependente de carga parasitária de *Schistosoma mansoni*, baixos níveis de IL-33 ou TNF- $\alpha$ e altos níveis de IL-10 no soro**

As infecções por helmintos e alergias são caracterizadas por uma resposta imune predominante do tipo 2. Na esquistossomose, a resposta Th2 geralmente é acompanhada pela indução de mecanismos imunorreguladores que contribuem para a sobrevivência do verme e esquistossomose menos grave. Embora os mecanismos imunomoduladores induzidos por helmintos pareçam afetar a atopia, os estudos epidemiológicos sobre a relação entre helmintos e alergia têm sido inconsistentes, e os dados sugerem que os efeitos modulatórios podem ser influenciados por espécies de helmintos, cronicidade da infecção e carga parasitária. Nessa fase realizamos um estudo transversal para investigar os efeitos da carga do parasita *S. mansoni* e da resposta imune na reatividade alérgica de indivíduos que vivem em uma área endêmica de esquistossomose no Brasil. Os residentes dessa área cederam amostras fecais que foram avaliadas por uma combinação de exames parasitológicos e teste molecular. Concentrações de citocinas e quimiocinas, IgE total e reatividade de IgE a alérgenos de poeira também foram avaliados por ELISA através de amostras de soro, possibilitando observar sua participação na relação entre infecção por *S. mansoni* e reatividade contra antígenos de poeira doméstica. A reatividade de IgE a alérgenos de poeira foi detectada em 47 indivíduos (23,8%), e 140 indivíduos (54,4%) foram diagnosticados com infecção por *S. mansoni*. A maior parte da população infectada (108 indivíduos) apresentou carga parasitária muito baixa ( $\leq 12$  ovos / g de fezes). Os níveis séricos dos mediadores imunológicos foram comparativamente avaliados em indivíduos com reatividade alérgica à alérgenos da poeira e nos sem reatividade alérgica e aqueles que apresentaram valor de  $p < 0,25$  foram selecionados para a confecção do modelo multivariado de regressão logística final. Esses modelos ajustados por idade revelaram que a infecção por *S. mansoni* é capaz de reduzir as chances de se ter reatividade contra alérgenos de poeira, sendo esse efeito dependente tanto de carga parasitária quanto da produção de citocinas pró- e anti-inflamatórias. Indivíduos infectados com carga menor ou igual a 12 OPG apresentaram reatividade alérgica semelhante aos indivíduos negativos, entretanto, indivíduos infectados que eliminavam mais que 12 OPG tiveram cerca de seis vezes menores chances de ter reatividade alérgica aos antígenos de poeira. Os modelos também revelaram que a reatividade alérgica foi positivamente associada com baixa resposta de IL-10 e alta concentração de IL-33 ou TNF- $\alpha$  no soro, sendo inversamente associado à infecção por *S. mansoni*.



Nesta etapa do estudo foi avaliado a prevalência e intensidade de reatividade alérgica à antígenos da poeira e sua relação com a infecção por *S. mansoni* nos residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo. Os dados aqui apresentados foram publicados Resende *et al.* 2019. Modulation of Allergic Reactivity in Humans Is Dependent on *Schistosoma mansoni* Parasite Burden, Low Levels of IL-33 or TNF- $\alpha$  and High Levels of IL-10 in Serum. *Front Immunol.* 9:3158. doi: 10.3389/fimmu.2018.03158.



## Modulation of Allergic Reactivity in Humans Is Dependent on *Schistosoma mansoni* Parasite Burden, Low Levels of IL-33 or TNF- $\alpha$ and High Levels of IL-10 in Serum

Samira D. Resende<sup>1</sup>, Fernanda C. Magalhães<sup>1</sup>, Jaizra L. Rodrigues-Oliveira<sup>1</sup>, Vanessa N. Castro<sup>1</sup>, Carolina S. A. Souza<sup>2</sup>, Edward J. Oliveira<sup>2</sup>, Marlângela Carneiro<sup>3</sup>, Stefan M. Geiger<sup>1</sup> and Deborah A. Negrão-Correa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil; <sup>2</sup> Schistosomiasis Laboratory, René Rachou Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Belo Horizonte, Brazil

### OPEN ACCESS

Edited by:  
Michael Harrison Hsieh,  
Children's National Health System,  
United States

Reviewed by:  
Fausto Edmundo Lima Pereira,  
Universidade Vila Velha, Brazil  
Audrey Romana,  
IRH Genetics, France

\*Correspondence:  
Deborah A. Negrão-Correa  
denegr@icb.ufmg.br

Specialty section:  
This article was submitted to  
Microbial Immunology,  
a section of the journal  
Frontiers in Immunology

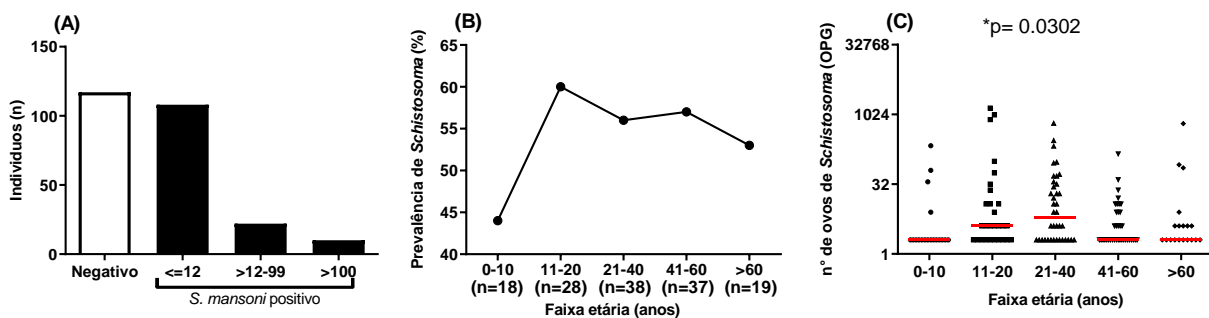
Received: 06 September 2018  
Accepted: 21 December 2018  
Published: 18 January 2019

Citation:  
Resende SD, Magalhães FC,  
Rodrigues-Oliveira JL, Castro VN,  
Souza CSA, Oliveira EJ, Carneiro M,  
Geiger SM and Negrão-Correa DA  
(2019) Modulation of Allergic  
Reactivity in Humans Is Dependent on  
*Schistosoma mansoni* Parasite  
Burden, Low Levels of IL-33 or TNF- $\alpha$   
and High Levels of IL-10 in Serum.  
*Front. Immunol.* 9:3158.  
doi: 10.3389/fimmu.2018.03158

Helminth infections and allergies are characterized by a predominant type-2 immune response. In schistosomiasis, the Th-2 response is usually accompanied by induction of immunoregulatory mechanisms that contribute to worm survival and less severe schistosomiasis. Although helminth-induced immunomodulatory mechanisms seem to affect atopy, epidemiological studies on the relationship between helminths and allergy have been inconsistent, and data suggest that the modulatory effects may be influenced by helminth species, chronicity of infection, and parasite burden. Here we performed a cross-sectional study to investigate the effects of *Schistosoma mansoni* parasite burden and immune response on allergic reactivity of individuals living in a schistosomiasis endemic area in Brazil. Fecal samples from the participants were collected for extensive parasitological examinations by spontaneous sedimentation, Kato-Katz, Helminex and Saline Gradient tests and molecular detection of *S. mansoni* by qPCR. Additionally, the concentrations of cytokines and chemokines, total IgE and IgE-reactivity to common house dust allergens were quantified from serum samples. IgE reactivity to dust allergens was detected in 47 individuals (23.8%), and 140 individuals (54.4%) were diagnosed with *S. mansoni* infection. Most of the infected population (108 individuals) presented very low parasite burden ( $\leq 12$  eggs/g of feces). The frequency and intensity ( $p \leq 0.03$ ) of allergic reactivity were lower in *S. mansoni*-infected compared with non-infected individuals. Multivariable logistic regression models adjusted by age revealed that allergic reactivity was positively associated with low IL-10 response (OR, 4.55, 95% CI, 0.56–7.36) and high concentration of the inflammatory mediators IL-33 (OR, 2.70, 95% CI, 1.02–7.15) or TNF- $\alpha$  (OR, 6.88, 95% CI, 0.32–143.39) in serum, and inversely associated with *S. mansoni* infection (OR, 0.38, 95% CI, 0.16–0.87).

## 7.1 Infecção por *Schistosoma mansoni* e reatividade do IgE para alérgenos de poeira doméstica nos residentes de Brejo do Amparo

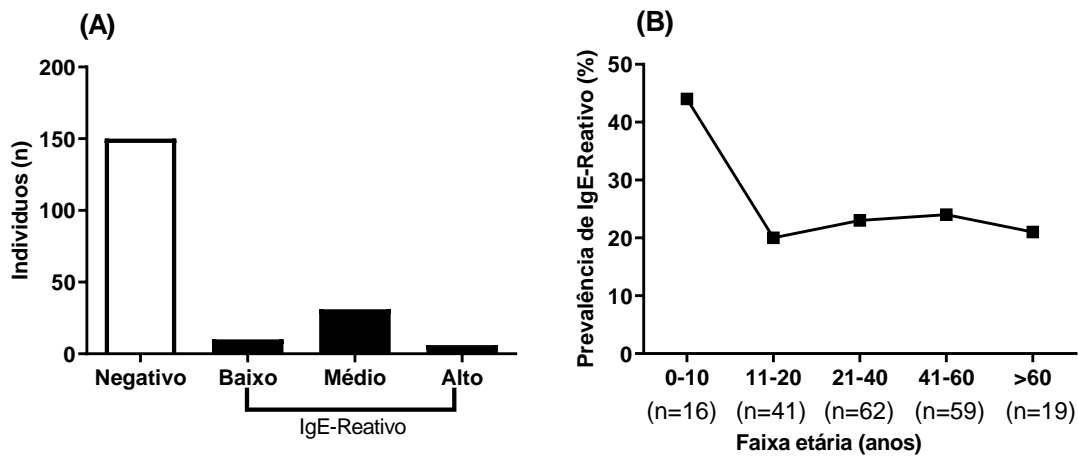
Conforme demonstrado anteriormente, a prevalência da infecção por *S. mansoni* entre os residentes de Brejo do Amparo foi de 54%. Apesar de elevada prevalência, a carga parasitária de indivíduos infectados por *S. mansoni*, baseada na contagem de ovos de seis lâminas de Kato-Katz confeccionada a partir de três amostras fecais, revelaram que apenas dez indivíduos (7%) apresentaram carga parasitária moderada ou alta ( $> 100$  OPG). Os 130 (93%) indivíduos infectados restantes apresentaram baixa carga parasitária ( $\leq 100$  OPG). É importante destacar que entre os indivíduos com baixa carga parasitária, a vasta maioria (83%) eliminavam menos do que 12 OPG (Figura 5A). A prevalência de esquistossomose em indivíduos abaixo de dez anos de idade foi de 44%, enquanto 60% dos indivíduos com idade entre 11 e 20 anos, e 53-56% dos indivíduos em grupos etários mais velhos apresentaram a infecção (Figura 5B). Apesar da maioria dos indivíduos infectados terem um baixo número de ovos nas fezes, a carga parasitária foi levemente maior em indivíduos com idade entre 11 e 40 anos (Figura 5C).



**Figura 5:** Prevalência e carga parasitária da infecção por *S. mansoni* na população de estudo. A- Frequência da infecção de *S. mansoni* e carga parasitária entre os indivíduos; B- Carga parasitária em indivíduos IgE-reativo e não-reativos. C- Prevalência de infecção por *S. mansoni* por faixa etária; D- Carga parasitária (OPG) por faixa etária. Em B e D os pontos representam o número de ovos eliminados por cada indivíduo e as barras horizontais o valor das medianas. Comparação entre os grupos feito por Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis para múltiplas comparações e o valor de p da comparação foi atribuído.

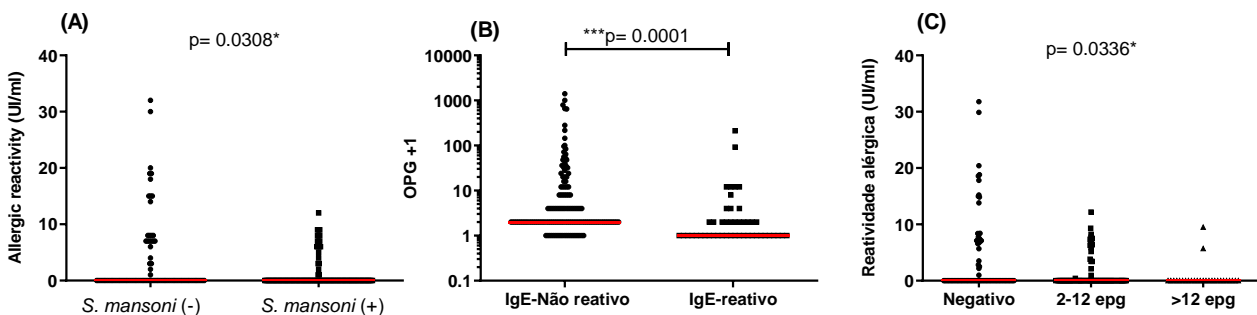
Dentre os 197 indivíduos testados para reatividade do IgE contra alérgenos de poeira, 47 (23,9%) foram reativos ( $\geq 0.35$  IU/mL). A mediana de intensidade da reatividade do IgE na população de reativos foi de 7 IU/mL (IIQ 5.1 – 9.5), e seis indivíduos mostraram forte reatividade ( $\geq 17$  IU/mL) (Figura 6A). A prevalência de reatividade o IgE na população foi de 44% entre crianças abaixo de dez anos de idade e permaneceu entre 21% e 24% em indivíduos mais velhos (Figura 6B), entretanto não

houve diferença estatística significativa na intensidade da reatividade do IgE para alérgenos de poeira entre as diferentes faixas etárias.



**Figura 6:** Prevalência e intensidade de IgE-reactivo contra alérgenos de poeira doméstica entre a população de estudo. A- Frequência e intensidade de IgE-reactivo entre os indivíduos; B- Prevalência de IgE-reactivo por faixa etária.

É importante destacar que entre os 47 indivíduos IgE-reactivos, 44,7% apresentaram infecção por *S. mansoni*, enquanto que mais de 60% dos indivíduos IgE-não reativos (150 indivíduos) foram infectados com o parasita trematódeo ( $p = 0,06$ ), sugerindo que a população de não reativos é mais susceptível para a infecção por *S. mansoni*. Além disso, a intensidade de reatividade do IgE contra alérgenos de poeira foi mais forte em indivíduos não infectados em comparação com aqueles que estavam infectados por *S. mansoni* ( $p = 0,0308$ ) (Figura 7A), e a carga parasitária de *S. mansoni* também foi significativamente menor ( $p = 0,0001$ ) em indivíduos IgE-reactivos do que entre os não reativos (Figura 7B). Interessantemente, uma significativa redução de reatividade ao IgE para alérgenos foi detectado apenas em indivíduos infectados que eliminaram mais de 12 opg (Figura 7C).



**Figura 7:** Prevalência e intensidade de IgE-reactivo contra alérgenos de poeira doméstica entre a população de estudo. A- Intensidade de IgE-reactivo entre indivíduos infectado e não infectados por *S. mansoni*; B- Carga parasitária em indivíduos IgE-reactivo e não-reactivos; C- Intensidade de IgE-reactivo

por carga parasitária. Comparação entre os grupos foram feitos por Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis com múltipla comparação e o valor de p da comparação foi atribuído.

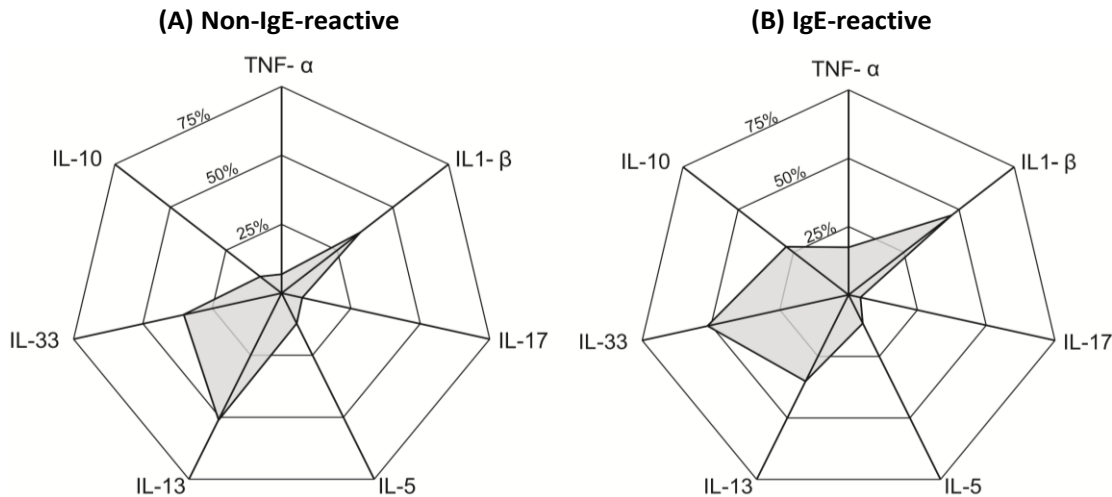
## **7.2 Perfil de resposta imune dos indivíduos reativos a antígenos da poeira**

Como já demonstrado, a maioria dos indivíduos avaliados no presente estudo apresentaram níveis séricos abaixo do limite de detecção do ensaio para TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-10, IL-13, IL-17, e IL-33. Dessa forma, nós comparamos a frequência de indivíduos com um nível detectável dessas citocinas no soro (respondedores de citocina) entre indivíduos IgE-reativo e não reativo, independentemente de status parasitológico. Na tabela 12 é possível observar que a frequência de respondedores para IL-1 $\beta$ , IL-5, e IL-17 foi baixa e semelhante entre os indivíduos IgE-reativos e não reativos para alérgenos de poeira. Em contraste, a frequência de respondedores para TNF- $\alpha$  ( $p = 0,031$ ) e IL-10 ( $p = 0,001$ ) foi significativamente maior no grupo IgE-reativo em comparação com os indivíduos não reativos. Uma maior porcentagem de indivíduos IgE-reativo apresentou níveis detectáveis de IL-33 ( $p = 0,071$ ), enquanto uma porcentagem mais alta de respondedores de IL-13 foi observada na população não reativa à IgE (Tabela 12). Figura 8 ilustra a frequência de respondedores para citocinas em indivíduos IgE-reativos versus não reativos.

**Tabela 12:** Frequência (n e %) de níveis detectáveis de citocinas no soro de indivíduos IgE-reativos ou não-reativos contra alérgenos de poeira doméstica.

Citocinas	IgE não-reativo 150 (76,1%)	IgE-reativo 47 (23,8%)	<i>p</i> valor <sup>1</sup>
<b>IL1-β (n = 192)</b>			
Indetectável	95 (64,6%)	24 (53,3%)	0,172
Detectável	52 (35,4%)	21 (46,7%)	
<b>IL-6 (n = 192)</b>			
Indetectável	42 (28,4%)	8 (18,2%)	0,176
Detectável	106 (71,6%)	36 (81,8%)	
<b>TNF-α (n = 193)</b>			
Indetectável	137 (93,2%)	38 (82,6%)	0,031*
Detectável	10 (6,8%)	8 (17,4%)	
<b>IL-17 (n = 193)</b>			
Indetectável	136 (92,5%)	44 (95,7%)	0,459
Detectável	11 (7,5%)	2 (4,3%)	
<b>IL-10 (n = 192)</b>			
Indetectável	132 (90,4%)	33 (71,7%)	0,001**
Detectável	14 (9,6%)	13 (28,3%)	
<b>IL-5 (n = 192)</b>			
Indetectável	115 (87,8%)	38 (88,4%)	0,919
Detectável	16 (12,2%)	5 (11,6%)	
<b>IL-13 (n = 168)</b>			
Indetectável	64 (48,9%)	24 (64,9%)	0,085
Detectável	67 (51,1%)	13 (35,1%)	
<b>IL-33 (n = 175)</b>			
Indetectável	88 (64,7%)	19 (48,7%)	0,071
Detectável	48 (35,3%)	20 (51,3%)	

<sup>1</sup>Teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ), \* $p \leq 0.05$ .



**Figura 8:** Gráfico de radar mostrando a frequência de respondedores em cada citocina avaliada no soro de indivíduos IgE-não reativo (A) e IgE-reactivo (B) para alérgenos de poeira doméstica entre os residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januária, MG, Brasil.

Em contraste, quase todos os indivíduos na população de estudo mostraram níveis séricos detectáveis de quimiocinas CCL-3, CCL-5, CXCL-10, CCL-11 e CCL-17, e da citocina IL-27. A tabela 13 apresenta valores medianos desses mediadores imunológicos para indivíduos IgE-reactivo e não reativo. As concentrações desses mediadores foram estatisticamente similares em ambos grupos.

**Tabela 13:** Concentração de citocinas (pg/ml) no soro de indivíduos com IgE-reactivo e não reativo contra alérgenos de poeira doméstica em indivíduos da população de estudo.

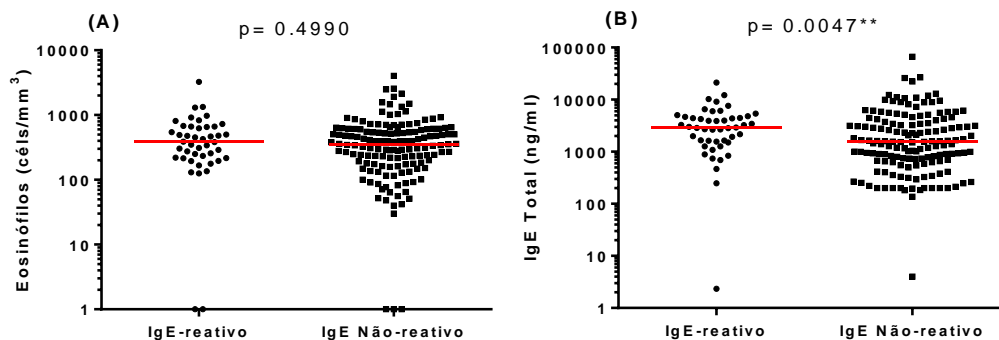
Citocinas/ Quimiocinas (pg/mL)	IgE-não reativo		IgE-reactivo		<i>p</i> valor <sup>1</sup>
	Mediana	IIQ (25% -75%)	Mediana	IIQ (25% -75%)	
<b>IL-27</b>	700	330 – 1056	623	400– 862	0,623
<b>CXCL-10</b>	111	72 – 173	120	90 – 178	0,248
<b>CCL-3</b>	5970	3360 – 1555	5360	2900 – 309	0,943
<b>CCL-5</b>	11695	7498 – 21857	13245	6328 – 32397	0,602
<b>CCL-11</b>	74	24 – 181	91	24 – 192	0,497
<b>CCL-17</b>	251	109 – 1079	228	117 – 688	0,735

<sup>1</sup>Mann-Whitney test.

IIQ = Intervalo interquartil.

Nestes indivíduos também foi avaliado a concentração sérica de IgE total e o número de eosinófilos circulantes (Figura 9). Os valores medianos de eosinófilos circulantes foram similares em

indivíduos IgE-reativo e não reativo (Figura 9A). Entretanto, a concentração de IgE total foi significativamente maior em indivíduos IgE-reativos comparados com não reativos (Figura 9B).



**Figura 9:** Número de eosinófilos circulantes e concentração de IgE total no soro de indivíduos IgE-reativos residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januário, MG, Brasil. A- Número de eosinófilos circulantes em indivíduos IgE-reativos e não reativos. B- Número de eosinófilos circulantes e concentração de IgE total no soro de indivíduos IgE-reativos residentes da comunidade rural de Brejo do Amparo, Januário, MG, Brasil. A- Número de eosinófilos circulantes em indivíduos IgE-reativos e não reativos. B- Concentração sérica de IgE total em indivíduos IgE-reativo e não reativo para alérgenos de poeira doméstica. Teste Mann-Whitney. Valor das medianas estão representados pelas barras horizontais;  $p < 0.05$ .

### 7.3 Modelos de regressão multivariada

As tabelas 14 e 15 exibem os modelos finais de regressão logística que descrevem o efeito de diferentes mediadores imunológicos e o status de infecção por *Schistosoma* na reatividade alérgica contra alérgenos de poeira doméstica. O primeiro modelo foi construído usando a presença da infecção por *Schistosoma* (mono e coinfectado) ou ausência da infecção (negativos e qualquer outra infecção), sendo ajustado por idade (saídas da na análise – Apêndice 1). A análise revelou que a reatividade alérgica foi inversamente associada com a presença da infecção e positivamente associado com baixa ( $\leq 100$  pg/ml) concentração sérica de IL-10 e alta ( $> 100$  pg/ml) concentração de IL-33. Apesar de CXCL10 ter sido estatisticamente associada com a reatividade alérgica (Tabela 14), este apresentou OR próxima de 1 (OR, 1.0031, 95%, IC= 1.0006 – 1.0057), sendo mantida para melhor ajustamento do modelo.

**Tabela 14:** Modelo multivariada de regressão logística para associação entre reatividade alérgica, infecção por *Schistosoma mansoni* e mediadores imunológicos.

Variáveis	Reatividade alérgica			
	Odds ratio	z score	p valor	IC 95%
Infecção por <i>S. mansoni</i>	0.38	-2.27	0.02*	0.16 – 0.87
IL-10 ≤ 100 pg/ml	4.82	2.36	0.01*	1.30 – 17.85
IL-10 > 100 pg/ml	1.48	0.49	0.62	0.30 – 7.36
IL-33 ≤ 100 pg/ml	1.40	0.59	0.55	0.44 – 4.43
IL-33 > 100 pg/ml	2.70	2.01	0.04*	1.02 – 7.15
CXCL-10	1.00	2.02	0.04*	1.00 – 1.05

Curva ROC = 0.7294

Um segundo modelo de regressão foi estabelecido seguindo a categorização da infecção por *Schistosoma* em muito baixa ( $\leq 12$  OPG) ou moderada ( $>12$  OPG) carga parasitária (saídas da na análise – Apêndice 1). A análise demonstrou uma correlação inversa entre reatividade alérgica e infecção por *Schistosoma* apenas em indivíduos infectados, eliminando mais de 12 OPG. O risco de desenvolvimento de reatividade alérgica foi seis vezes menor nesses indivíduos. Entretanto, os indivíduos infectados com carga parasitária muito baixa ( $\leq 12$  OPG) não foram capazes de modular a reatividade alérgica. Adicionalmente, a reatividade alérgica também foi positivamente associada com baixa ( $\leq 100$  pg/ml) concentração sérica de IL-10 e alta ( $>10$  pg/ml) concentração de TNF- $\alpha$  (Tabela 15).

**Tabela 15:** Modelo multivariado de regressão logística para associação entre reatividade alérgica, intensidade de carga parasitária para *Schistosoma mansoni* e mediadores imunológicos.

Variáveis	Reatividade alérgica			
	Odds	z score	p valor	IC 95%
Infecção por <i>S. mansoni</i> (OPG $\leq 12$ )	0.69	-0.92	0.35	0.32 – 1.49
Infecção por <i>S. mansoni</i> (OPG $> 12$ )	0.17	-2.12	0.03*	0.03 – 0.87
TNF- $\alpha$ $\leq 10$ pg/ml	1.63	0.49	0.62	1.10 – 13.22
TNF- $\alpha$ $> 10$ pg/ml	6.88	2.54	0.01*	0.32 – 143.39
IL-10 $\leq 100$ pg/ml	4.55	2.41	0.01*	1.20 – 12.67
IL-10 $> 100$ pg/ml	2.37	1.34	0.18	0.56 – 7.36

Curva ROC = 0.7356

## 7.4 Discussão

Helminhos parasitas são potentes indutores de mecanismos regulatórios capazes de reduzir processos inflamatórios e doenças autoimunes (Maizels et al., 2016, Webb et al., 2016). A indução de mecanismos imunomoduladores tem sido usada para explicar dados epidemiológicos relatando uma associação inversa entre a exposição e a infecção por helmintos e doenças inflamatórias crônicas humanas, incluindo condições alérgicas (Maizels et al., 2016, McSorley et al., 2014). Entretanto, uma



relação causal putativa entre a infecção por helmintos e a redução de doenças alérgicas é principalmente apoiada por dados de modelos experimentais, enquanto as evidências de estudos em humanos ainda são controversas e sugerem que aspectos como: espécie do helminto, cronicidade, local de infecção e carga parasitária deve ser levada em consideração (Evans e Mitre 2015, Cruz et al., 2017, Sanya et al., 2017). Nesse trabalho, nossa equipe realizou o estudo numa área endêmica para esquistossomose, onde a maioria dos indivíduos infectados possui baixa carga parasitária, com o objetivo de avaliar se esse fato poderia afetar a modulação da reatividade alérgica contra alérgenos domésticos comuns. Nossa análise revelou que a infecção por *S. mansoni* tem um efeito modulador na reatividade da IgE a alérgenos comuns em poeira doméstica em residentes de áreas com exposição frequente a esta infecção helmíntica. No entanto, o efeito modulador foi observado apenas em indivíduos com carga parasitária acima de 12 OPG. A modulação da reatividade alérgica também foi acompanhada por alterações na resposta imune sistêmica, incluindo as concentrações séricas de IL-33, TNF- $\alpha$  e IL-10. Em conjunto, nossos dados sugerem que os fatores associados às espécies de helmintos, carga parasitária e frequência de exposição devem ser explorados para melhor compreender os mecanismos associados à resposta imunomoduladora induzida de infecções por helmintos, que podem fornecer novas ferramentas para a prevenção de doenças alérgicas.

Estudos de base populacional avaliando a relação entre o estado parasitológico e a reatividade alérgica de indivíduos residentes nessas áreas ajudariam a compreender o papel da exposição frequente à infecção e da baixa carga parasitária na indução de mecanismos modulatórios que afetam as respostas alérgicas. No presente estudo, a combinação de diferentes técnicas de diagnóstico detectou 140 (54,4%) indivíduos infectados com *Schistosoma* mesmo que em carga parasitária muito baixa. Observamos que 47 (23,9%) indivíduos apresentaram IgE reativo aos alérgenos de poeira avaliados, sendo semelhante à prevalência da reatividade alérgica observada em outras áreas de transmissão de helmintos em comunidades rurais ou bairros pobres da América Latina. Na província de Esmeraldas, Equador, foi relatado que 26,5% da população da área urbana e 10,5% dos indivíduos das comunidades rurais eram reativos ao IgE (Endara et al., 2015). No Brasil, um grande estudo com crianças residentes de bairros periféricos de uma área com alta prevalência de infecção helmíntica revelou 37% de reatividade alérgica no soro (Grenfell et al., 2013, Alcântara-Neves et al., 2014).

Nossos dados também mostraram que a reatividade alérgica foi mais frequente em indivíduos não infectados do que em indivíduos com *Schistosoma*, sendo que estes últimos apresentaram menor intensidade de reatividade alérgica. Além disso, indivíduos não reativos ao IgE apresentaram maior carga parasitária em comparação com aqueles que foram reativos, sugerindo um efeito modulador da infecção por *S. mansoni* sobre o processo alérgico. A associação inversa entre reatividade alérgica e infecção por *S. mansoni* foi confirmada pelo modelo de regressão logística multivariado,

demonstrando que indivíduos infectados por *S. mansoni* foram três vezes menos propensos a desenvolver reatividade alérgica a alérgenos comuns em poeira do que indivíduos não infectados. Como a esquistossomose e as alergias são doenças crônicas, o modelo de regressão foi ajustado pela idade, indicando que o efeito da infecção pelo *Schistosoma*, como demonstrado aqui, não dependia da idade do hospedeiro.

Isso está de acordo com estudos epidemiológicos que avaliaram a reatividade alérgica através do Teste Cutâneo (TC) ou IgE específica para alérgeno (sIgE) em indivíduos que vivem em áreas altamente endêmicas para helmintos, e que mostraram uma associação inversa entre reatividade alérgica e a presença de infecções helmínticas crônicas, como *A. lumbricoides* e *T. trichiura* em áreas rurais do Equador (Cooper et al., 2003), ancilostomíase no sudeste da Ásia (Flohr et al., 2006) e *S. haematobium* em crianças do Gabão (Van Den Biggelaar et al., 2000). Em caso de infecção por *S. mansoni*, Medeiros et al. (Medeiros et al., 2003) demonstraram que indivíduos asmáticos residentes em áreas com alta prevalência de esquistossomose apresentaram evolução mais leve da asma em comparação com pacientes asmáticos residentes em áreas não endêmicas (Medeiros et al., 2003). Além disso, dados de meta-análise confirmaram que a infecção por *Schistosoma* reduziu o risco atópico (Feary et al., 2011). Em conjunto, esses dados indicam que a exposição frequente a infecções por helmintos pode afetar respostas imunorregulatórias que são capazes de modular processos inflamatórios contra outros antígenos que não os do parasita, conforme já sugerido por estudos previamente publicados (Smits et al., 2010, Khan et al., 2012). Em contraste, uma associação positiva entre atopia e infecção por *S. mansoni* foi relatada em uma comunidade pesqueira de Uganda altamente exposta a múltiplas infecções helmínticas e com alta prevalência de reatividade de IgE à alérgenos (Webb et al., 2016), sugerindo que o efeito da infecção por helmintos pode ser influenciado pela carga parasitária, tempo e cronicidade da infecção, e coinfeção com outras espécies.

Embora os mecanismos modulatórios induzidos pela infecção por helmintos que são capazes de regular a reatividade alérgica não sejam totalmente compreendidos, dados obtidos em camundongos experimentalmente infectados com *S. mansoni* ou imunizados com antígenos deste parasito e submetidos ao protocolo de indução de asma com inalação de solução de ovalbumina (Cardoso et al., 2010, Marinho et al., 2016, Pacífico et al., 2009) e estudos com pacientes asmáticos que vivem em áreas endêmicas poli-helmínticas (Araújo et al., 2004) mostraram que a modulação da inflamação da asma foi acompanhada pela indução da produção de Treg/IL-10 e redução da produção de citocinas Th2, principalmente IL-4 e IL-5, eosinofilia e níveis de IgE. No estudo atual, medimos a concentração de diferentes mediadores imunológicos em amostras de soro ou sangue sem estimulação adicional. A maioria dos indivíduos apresentou níveis indetectáveis de citocinas no soro, e para nos permitir mensurar essa frequência foi feita a categorização em não respondedor e respondedor com baixo ou

alto mediador imunológico. Dessa forma, foi possível mostrar que a frequência de respondedor para IL-10, TNF- $\alpha$  e IL-33 foi maior entre indivíduos IgE-reativos. Além disso, a reatividade alérgica foi positivamente associada a altos níveis de IL-33 ou TNF- $\alpha$ , e mais baixos de IL-10, indicando uma resposta inflamatória tipo 2 menos modulada na população atópica. O papel da produção de IL-10 na rede regulatória induzida pela infecção por helmintos, incluindo *Schistosoma*, tem sido apontado por vários estudos (Van Den Biggelaar et al., 2000, Araújo et al., 2004). Além disso, a gravidade das doenças alérgicas e a suscetibilidade à infecção por helmintos têm sido associadas a algumas formas polimórficas do gene IL-10 (Figueiredo et al., 2013, Santos et al., 2017).

Em relação à IL-33, sabe-se que esta alarmina é produzida principalmente pelo endotélio, epitélio e fibroblastos e, quando liberada após lesão celular, liga-se a seus receptores (ST2) expressos em células imunes inatas, como ILC2, estimula a produção precoce de IL-13 e IL-5, o que leva à infiltração de eosinófilos e ativação da resposta Th2 (Hammad & Lambrecht, 2015, Scmitz et al., 2005, Lliev et al., 2009). Proteases de helmintos e de alérgenos podem promover dano epitelial e secreção de IL-33, que é responsável para potencializar a inflamação Th-2 (Hammad & Lambrecht, 2015), indicando que a ativação da IL-33/ST2 está relacionada à intensidade da inflamação do tipo 2 nas barreiras epiteliais (Barlow et al., 2013). Além disso, os níveis de IL-33 se correlacionam com a gravidade clínica da asma (Préfontaine et al., 2009), e as variantes polimórficas do gene da IL-33 ou de seu receptor (ST2), foram implicadas na suscetibilidade à rinite alérgica (Sakashita et al., 2008) e ao risco de asma (Moffatt et al., 2010, Torgerson et al., 2011, Harada et al., 2011). Da mesma forma, a associação positiva da reatividade alérgica com a produção de TNF- $\alpha$  demonstrada no presente estudo também pode estar relacionada ao papel pró-inflamatório dessa citocina nos processos alérgicos, agindo para amplificar a inflamação de tipo 2 (Kay et al., 1991). Mais recentemente, Choi et al. (2016) demonstraram que a quitina derivada de ácaros comuns na poeira doméstica induz a produção de TNF- $\alpha$ , que é um mediador chave no desenvolvimento da resposta das células Th2 à alérgenos inalados (Choi et al., 2016). Portanto, a associação positiva de indivíduos alto-respondedores à IL-33 ou TNF- $\alpha$  e atópicos, como demonstrado no presente estudo pode refletir em uma resposta imune tipo 2 não modulada.

O número de eosinófilos circulantes e a concentração de IgE total no soro foram elevados nos residentes de Brejo do Amparo, independentemente do estado alérgico. Resultados semelhantes também foram relatados por Cooper et al., (2003) em áreas com alta exposição à infecção por helmintos. Apesar da associação observada na análise univariada, a concentração total de IgE não se associou à reatividade alérgica em nosso modelo multivariado final. No entanto, é importante considerar que a ativação de IgE policlonal induzida por helmintos e ou o aumento de IgG induzido pelo parasito para determinantes de carboidratos em glicoproteínas que apresentam reação cruzada

com alérgenos ambientais, podem bloquear a reação de hipersensibilidade alérgica, auxiliando na modulação de doenças alérgicas sintomas em indivíduos cronicamente expostos (Lambrecht & Hammad 2017, Igetei et al., 2017). Esses mecanismos podem estar ocorrendo para modular a resposta imune em indivíduos infectados com *S. mansoni* e devem ser melhor avaliados na população humana.

Finalmente, a extensa caracterização da infecção ativa por *S. mansoni* por uma combinação de testes parasitológicos e molecular nos permitiu identificar um grande número de indivíduos com carga parasitária muito baixa. O modelo de regressão logística multivariada confirmou que, enquanto indivíduos infectados por *S. mansoni* com maior carga parasitária ( $> 12$  OPG) apresentaram risco de reatividade do IgE 6 vezes menor, indivíduos infectados com carga parasitária muito baixa ( $\leq 12$  OPG) apresentaram IgE-reativo semelhante aqueles que não estavam infectados. Esta é a primeira vez que um limite mínimo de carga parasitária foi identificado como necessário para a modulação da resposta alérgica. A importância da intensidade de carga em helmintos para indução da modulação alérgica foi também sugerida por Oliveira et al. (2018) em uma área rural no nordeste do Brasil, e, embora tenham mostrado que indivíduos infectados por *S. mansoni* apresentavam riscos reduzidos de desenvolver doenças alérgicas mesmo com baixa carga parasitária, seu diagnóstico foi baseado apenas em Kato-Katz, sendo muito improvável que incluísse indivíduos com  $\leq 12$  OPG (Katz et al., 1972). Rujeni et al., (2012), por outro lado, mostraram que a infecção por *S. hematobium* foi negativamente associada à resposta atópica em indivíduos que vivem em uma aldeia do Zimbábue de alta transmissão, mas não para indivíduos que vivem em uma aldeia com baixa transmissão mesmo em condições ambientais semelhantes, fato que se correlaciona bem com nossos próprios resultados (Rujeni et al., 2012).

Embora tenhamos sido capazes de mostrar o efeito da carga do parasita *S. mansoni* e da resposta imune na reatividade alérgica, uma importante limitação metodológica inerente aos estudos transversais é a impossibilidade de estabelecer inferências causais. Mais estudos de coorte são necessários para melhor elucidar a relação causal desses efeitos.

Em conclusão, aqui mostramos que a carga de *Schistosoma* é essencial para o efeito modulador da reatividade alérgica, mesmo em uma área endêmica onde a população está frequentemente exposta à infecção. Além da correlação inversa entre carga parasitária e reatividade IgE, nossos dados mostram claramente, pela primeira vez, que cargas parasitárias muito baixas ( $\leq 12$  OPG) não são suficientes para desencadear mecanismos modulatórios e, portanto, não afetam a prevalência e intensidade das respostas alérgicas. Mesmo que não entendamos completamente como a infecção por *S. mansoni* modula a resposta alérgica, os dados atuais indicaram que a infecção por helmintos, de uma forma dependente da carga, induziu uma resposta anti-inflamatória, incluindo a produção de IL-10, que reduziu IL-33/TNF- $\alpha$ , que estão associadas à diminuição da reatividade de IgE. Esses resultados representam uma contribuição importante para a compreensão dos mecanismos imunomoduladores

induzidos por helmintos e devem ser explorados na busca de novas estratégias terapêuticas para o tratamento de infecções por helmintos e doenças alérgicas.

## 8. CAPÍTULO 3

---

### **Avaliação da relação entre a infecção por *S. mansoni* e a reatividade a alérgenos de poeira um ano após o tratamento com Praziquantel na população de Brejo do Amparo, Januária-MG**

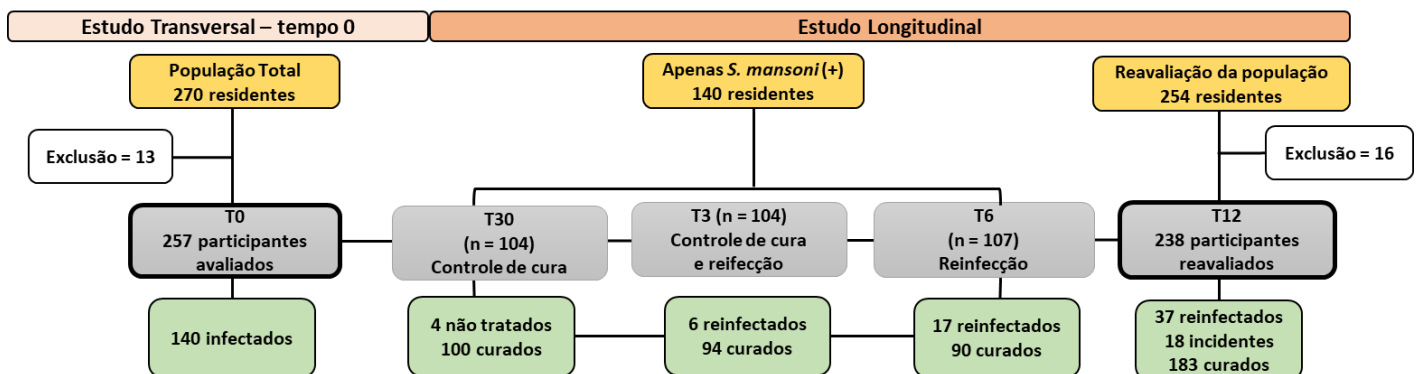
Nesta parte do estudo investigamos a relação temporal entre a infecção por *S. mansoni* e a reatividade alérgica, um ano após a intervenção terapêutica com Praziquantel na população residente em Brejo do Amparo, Januária-MG. No estudo transversal inicial (Tempo 0 = T0), os mediadores imunológicos quantificados, IL-10, IL-33, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IgE total mostraram-se associados à reatividade alérgica nas análises lineares. Na análise multivariada pacientes com baixos níveis séricos de IL-10 e elevados de TNF- $\alpha$  e IL-33 foram positivamente associados à reatividade aos alérgenos da poeira. Além dos fatores imunológicos, a presença e a intensidade da infecção por *S. mansoni* foram negativamente associadas à reatividade alérgica, sendo verificado que indivíduos infectados eliminando mais que 12 opg mostraram 6 vezes menos chances de desenvolver reatividade alérgica, com relação aqueles que infectados com carga parasitária mais baixa (< 12 opg). Para a avaliação temporal, os indivíduos infectados foram convocados para reavaliação parasitológica após 30 dias, 3 e 6 meses pós tratamento com Praziquantel para controle de cura, e toda população foi convocada para reavaliação parasitológica e imunológica após 12 meses. Os dados demonstram que, um ano após do tratamento com Praziquantel, a prevalência da esquistossomose reduziu para 23% e a reatividade alérgica teve aumento tanto na prevalência (29%) como na intensidade (mediana = 9 UI/mL). Mais uma vez os parâmetros imunológicos, hematológicos e o status parasitológico dos indivíduos foi avaliado quanto à reatividade alérgica a alérgenos da poeira. Dentre os 54 (29%) indivíduos reativos foi verificado maiores níveis séricos de IgE total e menor frequência de detecção para a quimiocina CCL3. Embora não tenha ocorrido associação entre a prevalência e intensidade tanto da infecção por *S. mansoni* com a reatividade alérgica, foi feita uma avaliação multivariada final para avaliar em conjunto todas as covariáveis ( $p \leq 0,25$ ) em relação ao evento ter ou não ter IgE reativo a alérgenos da poeira doméstica. Essa análise demonstrou uma associação positiva entre reatividade alérgica e crianças  $\leq 10$  anos e uma associação inversa entre reatividade alérgica e reinfeção com *S. mansoni* ou a frequência de níveis detectáveis para CCL3. Para concluir foi realizada uma análise pareada entre os indivíduos do T0 e seu equivalente no T12, que possibilitou mostrar um aumento significativo da intensidade alérgica entre todos os participantes ( $p = 0,0141$ ) após um ano de tratamento com Praziquantel. Os dados indicam que o aumento da reatividade alérgica aconteceu nos indivíduos

tratados e curados para *S. mansoni*, ( $p = 0,0491$ ), considerando que essa reatividade foi semelhante entre pacientes que permaneceram negativos durante todo período avaliado.

### 8.1 Prevalência e intensidade da infecção por *S. mansoni* após um ano de tratamento com Praziquantel (T12)

Na primeira coleta realizada em Brejo do Amparo, 257 residentes atenderam os pré-requisitos para participar do estudo, entregando suas amostras biológicas e assinando o termo de consentimento. Após a realização de uma combinação de testes diagnósticos, 140 indivíduos (54%) foram detectados com esquistossomose e encaminhados para o tratamento com Praziquantel. Trinta dias após o tratamento, 104 indivíduos infectados e tratados foram reavaliados para controle de cura através da combinação de testes parasitológicos. Neste momento, foi identificado que 4 indivíduos tiveram problemas em relação ao uso do fármaco utilizado, relatando vômito logo após a ingestão, sendo recomendado o retratamento. Estes indivíduos infectados na primeira fase do estudo continuaram sendo reavaliados 3 e 6 meses após o tratamento, sendo identificado presença de ovos de *S. mansoni* em 6 e 17 indivíduos, respectivamente, e estes foram novamente encaminhados para tratamento.

Doze meses após o estudo inicial, 238 dos 257 indivíduos que participaram das avaliações iniciais, cederam amostras de fezes para novas avaliações parasitológicas e 195 tiveram amostras de sangue coletadas, sendo que amostras de soro de 185 destes indivíduos puderam ser avaliados para detecção de reatividade alérgica e compõem a população de estudo deste segmento (Figura 10).



**Figura 10:** Fluxograma com o número de participantes e suas respectivas amostras no seguimento do estudo em Brejo do Amparo, Januária-MG.

Após 1 ano do tratamento com Praziquantel, a combinação de testes parasitológicos utilizados revelou presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes de 55 indivíduos, demonstrando que a prevalência de esquistossomose no local, que era de 54% foi reduzida para 23%. Entre os 55 indivíduos infectados,

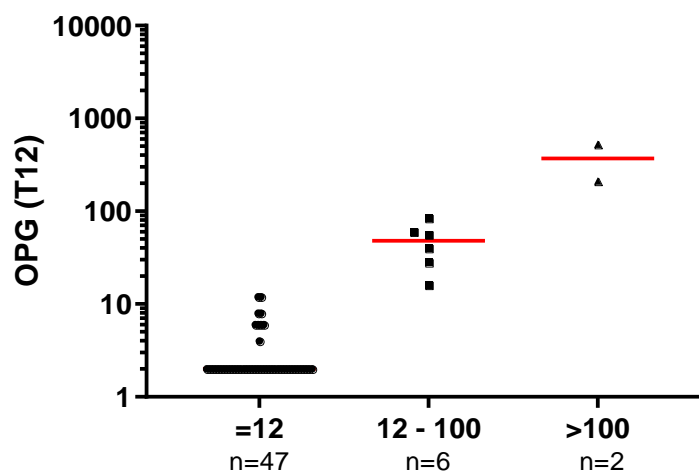
37 foram identificados como infectados no início do estudo (T0), sendo tratados e curados e apresentando-se reinfetados após 12 meses; os outros 18 indivíduos eram originalmente não infectados, representando dessa forma os casos incidentes. Neste período de um ano após o tratamento, a prevalência da infecção por *S. mansoni* foi semelhante entre homens e mulheres e distribuída homoganeamente entre as faixas etárias, perfil semelhante ao observado no estudo inicial (Tabela 16).

**Tabela 16:** Infecção para *Schistosoma mansoni* quanto à gênero e faixa etária na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG, após um ano de tratamento.

Variáveis (n)	Infecção por <i>S. mansoni</i>				Valor de p
	Não infectado (n=183)		Infectado (n=55)		
<b>Masculino (114)</b>	84	73,7%	<b>30</b>	26,3%	0,260
<b>Feminino (124)</b>	99	79,9%	<b>25</b>	20,1%	
<b>Faixa etária</b>					0,962
<b>0 – 10 (40)</b>	31	77,5%	<b>9</b>	22,5%	
<b>11 – 20 (42)</b>	34	81,0%	<b>8</b>	19,0%	
<b>21 – 40 (64)</b>	48	75,0%	<b>16</b>	25,0%	
<b>41 – 60 (61)</b>	46	75,5%	<b>15</b>	24,5%	
<b>&gt;60 (31)</b>	24	77,5%	<b>7</b>	22,5%	

Teste de Mann-Whitney

Assim como observado na análise inicial (T0), a maioria dos indivíduos infectados com *S. mansoni* no T12 tiveram baixa carga parasitária, sendo que 72% apresentaram menos que 4 ovos/g/fezes, sendo detectados apenas em testes diagnósticos mais sensíveis, como o Helmintex. Somente 2 indivíduos infectados apresentaram eliminação de ovos superior a 100 opg (Figura 11).



**Figura 11:** Distribuição da carga parasitária entre os infectados por *S. mansoni* (n=55) um ano após tratamento no Distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.



## 8.2 Infecção por *S. mansoni* e mediadores imunológicos nos residentes de Brejo do Amparo, um ano após o tratamento com Praziquantel (T12)

Participantes no presente estudo que apresentaram níveis séricos detectáveis para os moduladores imunológicos avaliados, tiveram as medianas comparadas (Tabela 17). As análises revelaram que os indivíduos infectados por *S. mansoni* apresentaram níveis significativamente elevados de IgE total ( $p=0,0121$ ) e de eosinófilos ( $p=0,0457$ ) em comparação com aqueles que não tinham a infecção. Entretanto, a concentração sérica de IL-27 e CCL17, não foi estatisticamente diferente entre os indivíduos infectados ou não por *S. mansoni*.

**Tabela 17:** Relação entre infecção por *S. mansoni* e seus mediadores imunológicos na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.

Mediadores imunológicos (n)	Não infectado <i>S. mansoni</i>		Infectado <i>S. mansoni</i>		p-valor
	Mediana	IQ*	Mediana	IQ	
IgE Total ng/mL	1423	452 - 3035	2862	848 - 4810	0,0121*
Eosinófilos cels/mm <sup>3</sup>	324	188 - 590	502	222 - 771	0,0457*
IL-27 pg/mL	1284	877 - 2318	1747	657 - 2635	0,7233
CCL17 pg/mL	187	68 - 307	248	6,6 - 451	0,3438

\*IQ-Interquartil

Teste de Mann-Whitney

A maioria dos indivíduos avaliados apresentaram níveis séricos indetectáveis das citocinas avaliadas. Dessa forma, comparamos a frequência de indivíduos respondedores para essas citocinas no soro como apresentado na Tabela 18. De forma interessante, a quimiocina CCL3 teve baixa detecção um ano após tratamento com Praziquantel, diferente do observado no T0, e dessa forma foi categorizada em frequência de indivíduos com níveis detectáveis ou não detectáveis nos diferentes grupos de indivíduos, para permitir sua análise. Com relação a citocina IL-17, diferente do observado no início do estudo, não foram encontrados indivíduos com níveis séricos detectáveis desta citocina na população avaliada após 12 meses do tratamento com Praziquantel, inviabilizando sua análise estatística. Dentre as demais citocinas avaliadas, somente a frequência de respondedor para IL-6 se mostrou significativamente maior entre os indivíduos infectados por *S. mansoni* que entre os não infectados ( $p=0,002$ ).

**Tabela 18:** Infecção por *S. mansoni* e frequência de respondedores para mediadores imunológicos um ano após tratamento na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.

Citocinas e quimiocinas (n)	Sm (-) n= 131 (%)	Sm (+) n= 37 (%)	OR Bruta	p-valor
<b>IL-1beta (n= 168)</b> Não detectável Detectável	128 (98) 3 (2)	37 (100) 0 (0)	1 NA	0,353
<b>IL-10 (n= 168)</b> Não detectável Detectável	84 (64%) 47 (36%)	21 (57) 16 (43%)	1 1.27	0,396
<b>IL-5 (n= 168)</b> Não detectável Detectável	130 (99%) 1 (1%)	37 (100%) 0 (0%)	1 NA	0,594
<b>IL-6 (n= 168)</b> Não detectável Detectável	80 (61%) 51 (39%)	12 (32%) 25 (68%)	1 3.2 (1.4 – 6.9)	0,002*
<b>IL-13 (n= 168)</b> Não detectável Detectável	130 (99%) 1 (1%)	36 (97%) 1 (3%)	1 3.3 (0.20 – 55.08)	0,337
<b>CCL3 (168)</b> Não detectável Detectável	88 (67%) 43 (33%)	27 (73%) 10 (27%)	1 0.85 (0.37 – 1.93)	0,503

Teste do qui-quadrado seguido de regressão logística  
NA= não aplicável para análise de regressão logística

### 8.3 Reatividade de IgE à alérgenos frequentes em poeira doméstica e nos residentes de Brejo do Amparo, um ano após tratamento com Praziquantel

Na avaliação realizada aos 12 meses pós-tratamento, entre os 185 indivíduos que realizaram o teste de IgE para alérgenos de poeira doméstica, 54 (29%) foram reativos, a maioria apresentando intensidade de reatividade considerada como média (Tabela 19).

**Tabela 19:** Frequência da reatividade alérgica em residentes de Brejo do Amparo após o tratamento com Praziquantel.

Concentração de IgE específico	12 meses
Não detectado (<0.35 UI/ml)	131 (71%)
Baixo (0.35 – 0.7 UI/ml)	6 (3%)
Médio (3.5 – 17.5 UI/ml)	39 (21%)
Alto (17.5 – 50 UI/ml)	9 (5%)
<b>Total</b>	<b>185</b>

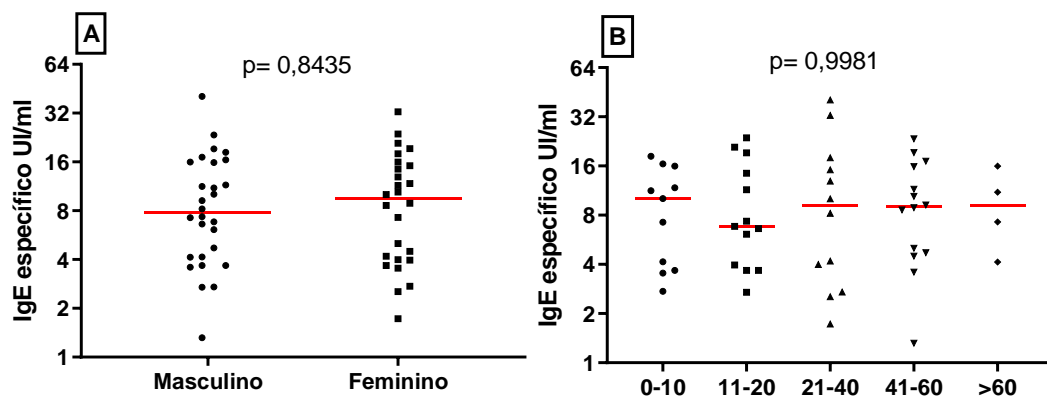
A frequência da reatividade alérgica após um ano de tratamento com Praziquantel na população foi estatisticamente semelhante entre generos e diferentes faixas etárias (Tabela 20).

**Tabela 20:** Frequência da reatividade para alérgenos de poeira quanto à gênero e faixa etária um ano após tratamento na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.

Variáveis	IgE específico 54/185				Valor de p
	Não reativo 131 (%)		Reativo 54 (%)		
Masculino (90)	62	69,3	28	30,7	0,610
Feminino (95)	69	72,6	26	27,3	
<b>Faixa etária</b>					0,240
0 – 10 (25)	14	56,0	11	44,0	
11 – 20 (35)	22	63,8	13	36,1	
21 – 40 (55)	43	78,2	12	21,8	
41 – 60 (52)	38	73,1	14	26,9	
>60 (18)	14	77,7	4	22,2	

Teste de Mann-Whitney

Assim como a prevalência, a intensidade da reatividade ao IgE específico para alérgenos de poeira não apresentou diferenças significativas entre gênero e faixa etária na população de estudo um ano após o tratamento com Praziquantel (Figura 12 A-B).



**Figura 12:** Prevalência e intensidade da reatividade alérgica em indivíduos de diferente faixa etária e gênero dentre os residentes de Brejo do Amparo avaliados após um ano do tratamento com Praziquantel. Comparação entre 2 grupos feito por Mann-Whitney (A) e Kruskal-Wallis foi utilizado para múltiplas comparações (B).

#### 8.4 Parâmetros da resposta imune em indivíduos reativos a alérgenos da poeira nos residentes de Brejo do Amparo, um ano após tratamento com Praziquantel

Pacientes reativos para IgE específico aos alérgenos de poeira apresentaram concentração sérica de IgE total significativamente maior ( $p= 0,0069$ ) em comparação com aqueles não reativos, como mostrado na tabela 6. O número médio de eosinófilos circulantes e a concentração sérica de IL-27 e CCL17 nos indivíduos reativos foi estatisticamente semelhante ao detectado nos indivíduos não reativos desta população (Tabela 21).

**Tabela 21:** Relação entre a reatividade alérgica, seus mediadores imunológicos e dados laboratoriais após um ano de tratamento com Praziquantel na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.

Mediadores Imunológicos e laboratoriais (n)	Não reativo		Reativo		p valor
	Mediana	IQ	Mediana	IQ	
<b>IgE Total ng/mL</b>	1412	394 - 3313	2580	1301 - 4593	0,0069**
<b>Eosinófilos cels/mm<sup>3</sup></b>	351	172 - 597	425	275 - 659	0,317
<b>IL-27 pg/mL</b>	1338	920 - 2466	1363	777 - 2284	0,4713
<b>CCL17 pg/mL</b>	179	43 - 343	220	126 - 337	0,6760

\*IQ-Interquartil

Teste de Mann-Whitney

A frequência dos indivíduos com níveis séricos detectáveis das demais citocinas avaliadas foi comparada entre indivíduos com reatividade de IgE à alérgenos da poeira e os não reativos. Como mostra a tabela 22 e já mencionado anteriormente, a quimiocina CCL3 teve baixa detecção um ano após tratamento com Praziquantel, sendo categorizada e a citocina IL-17 não apresentou detecção na população, inviabilizando sua análise. Dentre as citocinas avaliadas, não houve associação estatística com a reatividade ao IgE específico para alérgenos.

**Tabela 22:** Perfil de resposta imune em indivíduos reativos e não reativos à alérgenos de poeira na população do distrito Brejo do Amparo, Januária-MG.

Citocinas (T12)	Não reativo n= 131 (%)	Reativo n= 54 (%)	OR Bruta	Valor de p
<b>IL-1beta (n= 160)</b>			1	
Não detectável	112 (98)	45 (98)	1.23 (0.10 – 13.94)	0,859
Detectável	2 (2%)	1 (2%)		
<b>IL-10 (n= 161)</b>	<b>n= 115</b>	<b>n= 46</b>	1	
Não detectável	70 (61)	29 (63%)	0.89 (0.44 – 1.82)	0,798
Detectável	45 (39%)	17 (37%)		
<b>IL-5 (n= 168)</b>	<b>n= 114</b>	<b>n= 46</b>	1	
Não detectável	114 (100%)	45 (97,8%)	NA	0,114
Detectável	0 (0%)	1 (2,1%)		
<b>IL-6 (n= 160)</b>	<b>n= 114</b>	<b>n= 46</b>	1	
Não detectável	60 (53%)	27 (59%)	0.76 (0.38 – 1.53)	0,486
Detectável	54 (47%)	19 (41%)		
<b>IL-13 (n= 160)</b>	<b>n= 114</b>	<b>n= 46</b>	1	
Não detectável	113 (99%)	45 (98%)	2.48 (0.15 – 40.65)	0,504
Detectável	1 (1%)	1 (2%)		
<b>CCL3 (n= 160)</b>	<b>n= 115</b>	<b>n= 45</b>	1	
Não detectável	76 (66%)	36 (80%)	0.5 (0.21 – 1.14)	0,101
Detectável	39 (34%)	9 (20%)		

Teste do qui-quadrado seguido de regressão logística

NA= não aplicável para análise de regressão logística

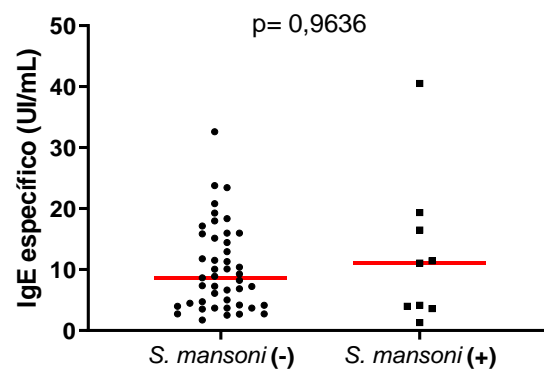
## 8.5 Reatividade alérgica e infecção por *S. mansoni*

Na análise realizada 12 meses após o tratamento com Praziquantel, a prevalência de reatividade entre os indivíduos não infectados foi de 32,1%, enquanto que 20% dos indivíduos com *S. mansoni* foram reativos à poeira doméstica. O teste do qui quadrado ( $\chi^2$ ) apresentado na tabela 23, indica um valor de p de 0,08. Nesta mesma população, a intensidade de reatividade ao IgE específico para alérgenos de poeira também foi semelhante entre os indivíduos infectados ou não para *S. mansoni* no T12 (Figura 13).

**Tabela 23:** Relação da prevalência de reatividade de IgE para alérgenos de poeira e infecção por *S. mansoni* na população de Brejo do Amparo, Januária-MG.

Reatividade por IgE específico				
Infecção por <i>S. mansoni</i>	Não reativo	Reativo	Odds	p valor
Negativo (n=140)	95	45	1	0,08
Positivo (n=45)	36	9	0,53	
<b>Total</b>	131	54		

Teste do qui-quadrado



**Figura 13:** Intensidade da reatividade alérgica em indivíduos não infectados e infectados com *S. mansoni* entre os residentes de Brejo do Amparo, 12 meses após o tratamento com Praziquantel. Comparação entre 2 grupos feito por Mann-Whitney.

Para conseguir visualizar e comparar melhor a prevalência e intensidade da reatividade alérgica após o tratamento com Praziquantel, foram avaliados os 185 indivíduos que realizaram diagnóstico parasitológico e teste de reatividade alérgica. Esses indivíduos foram separados de acordo com o status parasitário do T0 e T12 (Tabela 24), totalizando 79 negativos e 106 positivos para *S. mansoni* na avaliação inicial. Após um ano do tratamento com Praziquantel, 63 (79,7%) permaneceram sem a infecção, sendo denominados “**negativos**”, e 16 (20,2%) adquiriram a infecção, sendo denominados “**incidentes**”. Dentre os positivos que foram tratados no T0, 77(72,6%) não apresentou a infecção no

T12, sendo denominados “curados”, e 29 (27,4%) positivaram novamente sendo denominados “reinfetados”.

**Tabela 24:** Status de infecção por *S. mansoni* após um ano do tratamento com Praziquantel na população de Brejo do Amparo, Januária MG.

Infecção por <i>S. mansoni</i> no T0	Infecção por <i>S. mansoni</i> no T12 - n (%)	
<b>79 Negativos</b>	63 (79,7)	Permaneceram negativos
	16 (20,2)	Incidentes
<b>106 Positivos</b>	77 (72,6)	Curados
	29 (27,4)	Reinfetados

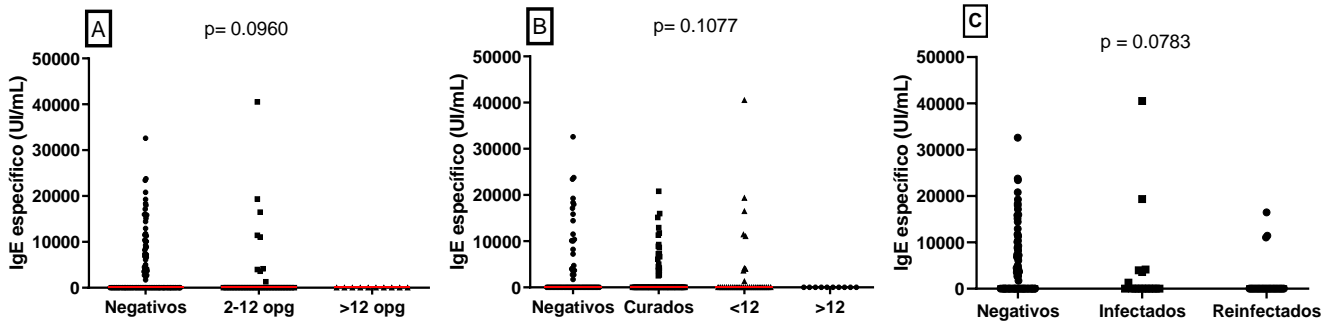
Na tabela 25 está representada a distribuição da frequência e intensidade da reatividade alérgica obtida desses 185 indivíduos, um ano após o tratamento com Praziquantel. É possível observar que a frequência de reatividade alérgica foi menor entre os indivíduos que se reinfetaram no período, grupo onde somente 10% dos indivíduos foram reativos ( $p=0,015$ ). Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas quanto à frequência de reatividade alérgica.

**Tabela 25:** Frequência de reatividade alérgica após um ano do tratamento com Praziquantel nos indivíduos com diferentes status de infecção por *S. mansoni* na população de Brejo do Amparo, Januária MG.

Infecção por <i>S. mansoni</i> (T12)	Reatividade para IgE específico			
	Não reativos n (%)	Reativos n (%)	OR Bruta (IQ)	p-valor
<b>Negativos por 12 meses (n= 63)</b>	40 (64,0)	23 (37,0)	1,51	0,116
<b>Restantes (n= 122)</b>	91 (75,0)	31 (25,0)	(3,9 – 17,9)	
<b>Incidentes (n=16)</b>	10 (65,5)	6 (37,5)	0,59	0,444
<b>Restantes (n=169)</b>	121 (76,0)	48 (28,4)	(3,0 – 24,6)	
<b>Curados (n=77)</b>	55 (71,0)	22 (29,0)	1,05	0,876
<b>Restantes (n=108)</b>	76 (70,0)	32 (30,0)	(4,4 – 17,0)	
<b>Positivos reinfetados (n=29)</b>	26 (90,0)	3 (10,0)	0,24	0,015
<b>Restante (n=156)</b>	105 (67,0)	51 (33,0)	(11,0 – 16,4)	

## 8.6 Reatividade alérgica e intensidade de carga de *S. mansoni*

Na população avaliada após um ano do tratamento com Praziquantel, foi verificado que pacientes não infectados, curados ou infectados com baixa carga ( $\leq 12$  opg) apresentaram maior número de indivíduos com alta intensidade de IgE reativo à alérgenos da poeira doméstica. Por outro lado, poucos ou nenhum indivíduo apresentou reatividade alérgica intensa entre os infectados eliminando mais que 12 opg ou os reinfetados, como demonstrado na Figura 14 A-C.



**Figura 14:** Relação da intensidade de reatividade de IgE para alérgenos de poeira e infecção por *S. mansoni* na população de Brejo do Amparo, Januária-MG após um ano do tratamento com Praziquantel. Comparação entre 2 grupos feito por Mann-Whitney (A) e Kruskal-Wallis foi utilizado para múltiplas comparações (B - C).

### 8.7 Análise multivariada final de Regressão Logística – Evento: Reatividade ao IgE específico.

Foi confeccionado um modelo multivariado final de regressão logística, utilizando como variável resposta indivíduos reativos e não reativos ao IgE específico. Todas as covariáveis que apresentaram valor de  $p < 0,25$  foram utilizadas na construção deste modelo, entre elas a faixa etária dos indivíduos, concentração sérica de IgE total, número de eosinófilos circulantes, frequência de respondedor para IL-6, IL-5 e CCL3 e status de infecção por *S. mansoni* (negativos, curados e reinfectados) e sua intensidade (saídas da análise – Apêndice 1).

As variáveis que permaneceram significativamente associadas ( $p < 0,05$ ) ao evento foram: pacientes com faixa etária  $\leq 10$  anos de idade, CCL3 detectável e reinfeção por *S. mansoni*. De acordo com a análise, indivíduos com menos de 10 anos de idade possuem até três vezes mais chances de apresentarem reatividade alérgica, enquanto que os indivíduos reinfectados por *S. mansoni* no período de um ano tiveram cerca de 6 vezes menos chances de apresentar reatividade alérgica. Entre os parâmetros imunológicos avaliados foi verificado que indivíduos com níveis séricos detectáveis de CCL3 apresentaram quase três vezes menos chance apresentar reatividade de IgE aos alérgenos da poeira doméstica (Tabela 26).

**Tabela 26:** Modelo multivariado de regressão logística para associação entre reatividade alérgica, infecção por *Schistosoma mansoni* e mediadores imunológicos no T12.

Variáveis	Reatividade IgE específico T12			
	OR Bruta (IC)	p-valor	OR Ajustada (IC)	p-valor
<b>Idade (≤ 10 anos)</b>	2,11 (0,83 – 5,41)	0,117	3,43 (1,04 – 11,24)	0,042*
<b>Idade (11–20 anos)</b>	2,88 (1,01 – 7,78)	0,046	1,78 (0,62 – 5,07)	0,279
<b>Idade (&gt;4um anos)</b>	1,24 (0,54 – 2,86)	0,613	1,00 (0,40 – 2,50)	0,994
<b>Reinfecção por <i>S. mansoni</i></b>	0,24 (0,07 – 0,82)	0,023	0,16 ( 0,03 – 0,77)	0,022*
<b>CCL3 Detectável</b>	0,50 (0,22 – 1,14)	0,101	0,36 (0,14 – 0,91)	0,031*

Log likelihood = -86.56068

Curva ROC = 0.6825

Ref. Idade: 21 a 40 anos

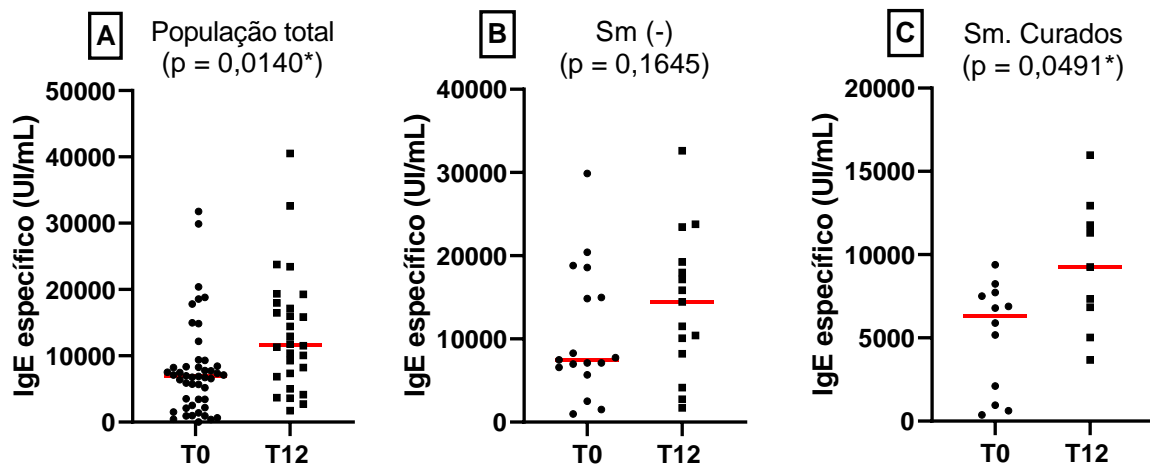
Ref. CCL3: Não detectável

Ref. Reinfecção: não reinfectado

### 8.8 Acompanhamento pareado da intensidade de reatividade alérgica versus a infecção por *S. mansoni* após um ano de tratamento.

Na figura 15, cada paciente avaliado no T0 para infecção por *S. mansoni* e reatividade ao IgE específico, foi pareado com o resultado equivalente das mesmas análises realizadas no T12, considerando o status de infecção por *S. mansoni* no T0 para propiciar uma cinética de avaliação após um ano de tratamento com Praziquantel. Na figura 15A é possível observar que a intensidade de reatividade alérgica foi maior no T12 ( $p= 0,0140$ ) em comparação com T0 na população total, que considerou todos os participantes do estudo, independente de estarem ou não infectados para esquistossomose. Quando a reatividade foi avaliada somente entre o grupo de indivíduos que permaneceram negativos para esquistossomose nos dois momentos avaliados, não houveram diferenças estatísticas significativas (Figura 15B). Quando a intensidade da reatividade foi comparada entre indivíduos infectados para *S. mansoni* no T0, que foram tratados e negativaram no T12, sendo considerados curados, foi possível observar um aumento significativo da intensidade nos indivíduos curados ( $p= 0,0491$ ), como mostra a Figura 15C.





**Figura 15:** Relação entre reatividade alérgica e infecção por *S. mansoni* antes e após um ano do tratamento com Praziquantel na população de Brejo do Amparo, Januária MG: **A-** Todos os participantes do estudo foram comparados quanto a reatividade ao IgE específico. **B-** Apenas indivíduos que permaneceram negativos para *S. mansoni* durante todo período avaliado tiveram a reatividade ao IgE específico comparado. **C-** Indivíduos positivos para *S. mansoni* que após tratamento negativaram no T12. Comparação entre grupos feita por Mann-Whitney.

## 8.9 Discussão

Nessa fase do estudo a população foi acompanhada durante um ano após o tratamento com Praziquantel. Uma investigação temporal foi realizada para avaliar mudanças nos fatores de resposta imunológica e reatividade alérgica após o tratamento para a infecção por *S. mansoni*. Doze meses após o estudo inicial, 238 dos 257 indivíduos que participaram das avaliações iniciais, cederam amostras de fezes e destes 185 cederam amostras de sangue que permitiram dosagem de IgE reativa a alérgenos da poeira. As análises para avaliar a relação entre a infecção por *S. mansoni* e a reatividade alérgica, foram feitas nesses 185 indivíduos que fizeram tanto os testes parasitológicos quanto teste de reatividade alérgica. Após um ano de tratamento, a combinação de testes parasitológicos revelou presença de ovos nas fezes de 55 indivíduos, demonstrando que a prevalência de esquistossomose no local, reduziu de 54% para 23%. Nessa reavaliação, 72,6% dos indivíduos tratados se curaram, 27,4% se reinfectaram e 20% foram incidentes. No teste de IgE específico para alérgenos de poeira, houve um aumento na prevalência de reatividade que foi de 23% para 29%.

Assim como observado no T0, a maioria dos indivíduos infectados com *S. mansoni* no T12 tiveram baixa carga parasitária, e a intensidade apresentou queda na mediana de 4 para 2 OPG. De acordo com Masaku et al. (2020), a administração de tratamento com Praziquantel é comumente responsável pela redução da intensidade de carga. A prevalência e intensidade de infecção por *S. mansoni* continuou semelhante entre gênero e idade nos residentes de Brejo do Amparo. Dentre os

mediadores imunológicos avaliados, os infectados por *S. mansoni* também continuaram apresentando maiores níveis séricos de IgE total e eosinófilos, e maior frequência de detecção para IL-6, como na avaliação inicial. Interessantemente, após um ano de tratamento a quimiocina CCL3 apresentou uma queda brusca nos níveis de detecção, e a citocina IL-17 não foi detectada em nenhum indivíduo nesse momento. A queda nos níveis desses mediadores imunológicos pode ser marcador indicativo da evolução da infecção nesses indivíduos, já que neste período quase todos os examinados tinham carga parasitária extremamente baixa.

Dentre os 54 indivíduos reativos ao teste alérgico, a prevalência e a intensidade foram estatisticamente semelhantes entre gênero e faixa etária, semelhante ao observado no T0. Os indivíduos reativos também apresentaram maiores níveis séricos de IgE total, como também observado na primeira coleta, enquanto que os não reativos apresentaram uma diferença marginal na frequência de detecção para a quimiocina CCL3. Quando comparada a prevalência de reatividade alérgica com a prevalência de infecção por *S. mansoni*, foi observada uma maior reatividade (32%) entre os não infectados em comparação com os infectados (20%), sem associação estatística para a análise univariada, mas considerável para ser utilizada no modelo multivariado final.

Avaliar a exposição aos helmintos é de particular interesse na compreensão da epidemiologia de doenças alérgicas por causa da homologia entre vários antígenos de helmintos e alérgenos, e as muitas semelhanças entre as respostas imunes específicas de helmintos e alérgenos. Anticorpos, especialmente IgE, são constituintes-chave das respostas imunes análogas a helmintos e alérgenos, e estão entre os principais mediadores da ativação de células efetoras subjacentes as doenças alérgicas (Nkurunungi et al., 2019). Nesse estudo a relação entre infecção por *S. mansoni* e a reatividade alérgica foi avaliada através da análise dos 185 indivíduos que após um ano de tratamento com Praziquantel fizeram tanto o teste de reatividade alérgica quanto o teste parasitológico de fezes. Foi observado que os reinfectados apresentaram frequência de reatividade alérgica significativamente menor que o restante da população, o que pode estar associado a indução de resposta imune mais modulada em indivíduos frequentemente reexpostos, mesmo com carga baixa, corroborando trabalhos no qual é enfatizado a importância da presença do verme para atuar como fator de proteção (Nkurunungi, et al., 2018, Resende et al., 2018, Masaku et al., 2020).

A avaliação multivariada final propiciou avaliar em conjunto todas as variáveis com relação à presença ou não da reatividade alérgica. A análise demonstrou uma associação positiva entre reatividade alérgica e idade (crianças  $\leq 10$  anos), o que pode estar relacionado a uma menor exposição a infecções pelo helminto, ainda não desenvolvendo consequentemente uma resposta modulatória. No estudo de Lynch et al. (1998), as crianças também apresentaram uma forte e significativa reatividade de IgE, quando identificadas com baixa carga de infecção helmíntica. Um dado diferente foi observado

no estudo desenvolvido por Jackola et al. (2003), que avaliaram mais de mil membros de famílias atópicas com idade entre 6 e 87 anos, objetivando identificar se há relação entre idade e produção elevada de IgE total e específico medida por teste cutâneo. Crianças abaixo de 10 anos apresentaram menor atopia em comparação com o grupo mais velho. Os autores sugerem que mecanismos fisiológicos específicos da atopia mudam durante os primeiros anos de vida. É importante enfatizar que a seleção de participantes para esse estudo pode ter sido crucial para evidenciar um dado diferente do nosso estudo, que foi realizado em área endêmica e não considerando fatores genéticos. Alcântara-Neves et al. (2017) descreveram que polimorfismos genéticos podem atuar como fator de risco associado à frequência da reatividade alérgica, bem como infecções helmínticas e condições anti-higiênicas principalmente na infância, indicando o envolvimento de múltiplos mecanismos. Ainda nessa linha, Wahyunia et al. (2005) descreveram que os fatores genéticos podem contribuir para o aumento de IgE total e específico. O fato é que não existe um único padrão e toda população possui características e particularidades que devem ser avaliadas em conjunto para uma representação mais real de cada cenário.

O modelo de regressão logística aqui apresentado também evidenciou uma associação inversa entre ser reativo para o teste alérgico e ter níveis detectáveis para CCL3 que nesse momento atuou como fator de proteção. CCL3 já foi previamente observada participando da polarização na produção de citocinas do tipo 2 e recrutamento de leucócitos para o fígado de camundongos infectados com *Schistosoma* (Silva-Souza et al., 2005), mesmo em pacientes infectados com baixa carga parasitária e sem sintomas clínicos (Falcão et al., 2002; Silva-Souza et al., 2005; Sousa-Pereira et al., 2006), o que pode estar relacionado ao fato dessa quimiocina estimular a produção da citocina IL-13, considerada pró-fibrótica (Alves Oliveira et al., 2006), podendo ser uma evidência de esquistossomose ativa, atuando mesmo que em baixíssima intensidade de carga no processo de modulação da resposta imune. Na revisão publicada por Nutman et al. (2015), os autores descreveram que embora as infecções por helmintos sejam caracteristicamente associadas a respostas mediadas por Th2, essas respostas são amplamente atenuadas quando essas infecções se tornam menos agudas. Essa resposta modulatória é frequentemente induzida por moléculas secretadas pelos helmintos através de células CD4+ regulatórias não Th2 e por células B não clássicas.

A última variável avaliada que permaneceu no modelo multivariado final foi a reinfecção para esquistossomose, inversamente associada ao evento, indicando até 6 vezes menos chances desse indivíduo ter IgE reativo a alérgenos da poeira. Esse dado concorda com inúmeros trabalhos realizados em área edêmica que demonstram a importância da presença do verme como agente central na modulação de respostas imunológicas (Supali et al., 2010; Rujeni et al., 2012; Oliveira et al., 2014, Staal et al., 2018, Alcântara-Neves et al., 2017; Marume 2020, Arrais et al., 2021). Um trabalho que

evidencia o importante papel da reinfecção, foi desenvolvido por Stein et al., (2016), com imigrantes da Etiópia, recém-chegados à Israel. Foi avaliado a carga parasitária das infecções por *S. mansoni* e ancilostomíase, e sua relação com a alergia definida tanto pela reatividade alérgica ao teste cutâneo quanto pela sintomatologia clínica relatada no questionário específico ISAAC. Os autores observaram uma associação negativa entre qualquer infecção helmíntica e a alergia definida. Apenas parte do grupo estudado concordou em tomar o anti-helmíntico e após um ano do tratamento todos os imigrantes apresentaram aumento tanto de sintomas alérgicos clínicos como de reatividade ao teste cutâneo, independente do tratamento. O estudo possibilita inferir que tanto a quimioterapia quanto a falta de exposição a helmintos para reinfecção nesse novo local contribuíram para o aumento nos desfechos de alergia, confirmando o importante papel da reinfecção frequente na indução da resposta modulatória.

Como desfecho de nosso trabalho, foi feito uma análise pareada entre cada indivíduo no T0 e seu equivalente no T12. Um aumento significativo da intensidade alérgica foi observado após um ano de tratamento com Praziquantel, sendo essa intensidade estatisticamente semelhante entre aqueles que permaneceram negativos e maior entre os pacientes curados. Essa análise concorda com os dados encontrados em nosso trabalho anterior (Resende et al., 2018), no qual foi demonstrado que a infecção por *S. mansoni* atua como fator de proteção para a reatividade alérgica, sendo aqui reforçado que quando tratados e curados esses pacientes apresentam aumento da intensidade de reatividade alérgica. Muitos autores descrevem que a relação entre a infecção helmíntica e reatividade alérgica depende tanto da presença do verme no momento atual quanto de sua intensidade da infecção (Rujeni et al., 2002, Jackola et al., 2003). Vários estudos longitudinais realizados em áreas endêmicas do mundo descreveram uma associação positiva entre tratamento anti-helmíntico e reatividade a alérgenos (Lynch et al., 1993, Flohr et al., 2009, Endara et al., 2010). Variações também foram encontradas e alguns estudos não observaram nenhum efeito do tratamento anti-helmíntico (Cooper et al., 2008), ou observaram efeito apenas em alérgenos específicos (Wiria et al., 2013).

## **9. CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Nossos dados fornecem informações importantes sobre a complexa relação entre a infecção helmíntica pelo *S. mansoni* e doenças alérgicas, no atual contexto epidemiológico, caracterizado pela baixa intensidade de carga. A população avaliada é composta por um grupo bastante homogêneo, tanto culturalmente como quanto às condições sanitárias e socioeconômicas, impactando de forma semelhante na transmissão da esquistossomose, propiciando o estudo de outras comorbidades.

Algumas características se destacaram na população avaliada, sendo peças-chave na relação parasito-hospedeiro e sua consequente modulação da reatividade alérgica.

Indivíduos respondedores para a citocina IL-17 foram positivamente associados à infecção por *S. mansoni*. A prevalência da esquistossomose, embora tenha sido semelhante na população, apresentou menor intensidade de carga em residentes com idade >40 anos. A presença do verme também foi aliada a baixa frequência de detecção sérica da citocina IL-10, sendo esta inversamente associada a reatividade alérgica, enquanto que um aumento na frequência de detecção para IL-33 ou TNF- $\alpha$  foi positivamente associado ao risco de ter reatividade aos alérgenos de poeira. A intensidade de carga, mesmo que baixíssima nessa população, também foi fundamental para o processo de atividade regulatória do *Schistosoma*, sendo possível caracterizar que nessa população, a resposta modulatória só ocorre a partir de uma intensidade de carga acima 12 ovos por grama de fezes.

Após um ano do tratamento com Praziquantel, a reinfeção por esquistossomose em conjunto com uma maior frequência de detecção para a quimiocina CCL3, foi associada a menores chances de desenvolver a reatividade alérgica, sendo essa também positivamente associada a crianças com idade abaixo de 10 anos, provavelmente decorrente de sua menor exposição ao helminto. A importância da infecção ativa foi claramente demonstrada na análise pareada entre os indivíduos no T0 e T12, evidenciando um aumento significativo da intensidade de reatividade alérgica entre aqueles que se trataram e curaram para esquistossomose.

Identificar e caracterizar fatores derivados da infecção por helmintos com forte atividade imunomodulatória pode fornecer novas e relevantes abordagens sobre suas estratégias de escape imunológico, permitindo levantar hipóteses e propiciando sua melhor compreensão. Ainda é necessário aprimorar nossa compreensão acerca da complexa interação entre helmintos e alergia, e há uma necessidade de mais estudos de base populacional, mas certamente as evidências aqui consolidadas possibilitaram novas formas de enxergar a dinâmica dessas comorbidades em residentes de área endêmica, rompendo barreiras que podem inclusive implicar no desenvolvimento de estratégias terapêuticas.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATH, F. G. C., MORAIS, C. N. L., MONTENEGRO, C. E. L., *et al.* "Immunopathogenic mechanisms in schistosomiasis: what can be learnt from human studies?", **Trends in parasitology**, v. 22, n. 2, p. 85–91, 2006.
- AKDIS, C. A., BLESKEN, T., AKDIS, M., *et al.* "Role of interleukin 10 in specific immunotherapy.", **The Journal of clinical investigation**, v. 102, n. 1, p. 98–106, 1998.
- ALCÂNTARA-NEVES, N M, BADARÓ, S. J., DOS SANTOS, M. C., *et al.* "ML, 2010. The presence of serum anti-*Ascaris lumbricoides* IgE antibodies and of *Trichuris trichiura* infection are risk factors for wheezing and/or atopy in preschool-aged Brazilian children", **Respir. Res.**, v. 11, p. 114, 2010.
- ALCANTARA-NEVES, Neuza M, VEIGA, R. v, PONTE, J. C. M., *et al.* "Dissociation between skin test reactivity and anti-aeroallergen IgE: Determinants among urban Brazilian children", **PloS one**, v. 12, n. 3, p. e0174089, 2017.
- ALCÂNTARA-NEVES, Neuza Maria, DE SG BRITTO, G., VEIGA, R. V., *et al.* "Effects of helminth co-infections on atopy, asthma and cytokine production in children living in a poor urban area in Latin America", **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2014.
- ALCANTARA-NEVES, Neuza Maria, VEIGA, R. V., DATTOLI, V. C. C., *et al.* "The effect of single and multiple infections on atopy and wheezing in children", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 129, n. 2, p. 359–367, 2012.
- ALVES OLIVEIRA, L. F., MORENO, E. C., GAZZINELLI, G., *et al.* "Cytokine production associated with periportal fibrosis during chronic schistosomiasis mansoni in humans", **Infection and immunity**, v. 74, n. 2, p. 1215–1221, 2006.
- ANDRADE, Z. A. "Schistosomiasis and hepatic fibrosis regression", **Acta Tropica**, v. 108, n. 2–3, p. 79–82, 2008.
- ANDRADE, Z. A., PRATA, A., OTHERS. "Asymptomatic Schistosomiasis studied by Needle Biopsy of the Liver.", **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 12, n. 6, p. 854–858, 1963.
- ARAÚJO, M. I., HOPPE, B. S., MEDEIROS JR, M., *et al.* "*Schistosoma mansoni* infection modulates the immune response against allergic and auto-immune diseases", **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 27–32, 2004.
- ARRAIS, M., LULUA, O., QUIFICA, F., *et al.* "Lack of Consistent Association between Asthma, Allergic Diseases, and Intestinal Helminth Infection in School-Aged Children in the Province of Bengo, Angola", **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 11, p. 6156, 2021.
- ASSIS, E. M. de, OLIVEIRA, R. C. de, MOREIRA, L. E., *et al.* "Prevalência de parasitos intestinais na comunidade indígena Maxakali, Minas Gerais, Brasil, 2009", **Cadernos de Saúde Pública**, v. 29, p. 681–690, 2013.

- ATTALLAH, A. M., TABLL, A. A., EL-SADANY, M., *et al.* "Dysregulation of blood lymphocyte subsets and natural killer cells in schistosomal liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma", **Clinical and experimental medicine**, v. 3, n. 3, p. 181–185, 2003.
- BACH, J.-F. "The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases", **New England journal of medicine**, v. 347, n. 12, p. 911–920, 2002.
- BAGER, P., ARNVED, J., RØNBORG, S., *et al.* "Trichuris suis ova therapy for allergic rhinitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 1, p. 123–130, 2010.
- BARBOSA, C. S. *et al.* Epidemiologia e controle da esquistossomose mansoni. **Carvalho OS, Coelho PMZ, Lenzi HL. Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 965-1008, 2008.**
- BARLOW, J. L., PEEL, S., FOX, J., *et al.* "IL-33 is more potent than IL-25 in provoking IL-13–producing nuocytes (type 2 innate lymphoid cells) and airway contraction", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 132, n. 4, p. 933–941, 2013.
- BARLOW, J. L., PEEL, S., FOX, J., *et al.* "IL-33 is more potent than IL-25 in provoking IL-13–producing nuocytes (type 2 innate lymphoid cells) and airway contraction", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 132, n. 4, p. 933–941, 2013.
- BERGQUIST, R., UTZINGER, J., MCMANUS, D. P. "Trick or treat: The role of vaccines in integrated schistosomiasis control", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 6, jun. 2008.
- BERNARD, A., CARBONNELLE, S., DE BURBURE, C., *et al.* "Chlorinated pool attendance, atopy, and the risk of asthma during childhood", **Environmental health perspectives**, v. 114, n. 10, p. 1567–1573, [S.d.].
- BINA, J. C., PRATA, A. "Esquistossomose na área hiperendêmica de Taquarendi: I Infecção pelo *Schistosoma mansoni* e formas graves", **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 211–216, 2003.
- BIZIMANA, P., ORTU, G., VAN GEERTRUYDEN, J.-P., *et al.* "Integration of schistosomiasis control activities within the primary health care system: a critical review", **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2019.
- BUCK, Amy H, COAKLEY, G., SIMBARI, F., *et al.* "Exosomes secreted by nematode parasites transfer small RNAs to mammalian cells and modulate innate immunity", **Nature communications**, v. 5, n. 1, p. 1–12, 2014.
- BUMBACEA, R. S., CORCEA, S. L., ALI, S., *et al.* "Mite allergy and atopic dermatitis: Is there a clear link?", **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 4, p. 3554–3560, 2020.
- BURBANK, A. J., SOOD, A. K., KESIC, M. J., *et al.* "Environmental determinants of allergy and asthma in early life", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 140, n. 1, p. 1–12, 2017.

- BUTTERWORTH, A. E., BENSTED-SMITH, R., CAPRON, A., *et al.* "Immunity in human schistosomiasis mansoni: prevention by blocking antibodies of the expression of immunity in young children", **Parasitology**, v. 94, n. 2, p. 281–300, [S.d.].
- CAMPBELL, S., BIRITWUM, N., WOODS, G., *et al.* "Tailoring water, sanitation, and hygiene (WASH) targets for soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis control", **Elsevier**, 1987.
- CARDOSO, L. S., OLIVEIRA, S. C., GÓES, A. M. de, *et al.* "Schistosoma mansoni antigens modulate the allergic response in a murine model of ovalbumin-induced airway inflammation", **Clinical & Experimental Immunology**, v. 160, n. 2, p. 266–274, 2010.
- CARVALHO, E. M., BASTOS, L. S., ARAUJO, M. I. "Worms and allergy", **Parasite immunology**, v. 28, n. 10, p. 525–534, 2006.
- CASAVECHIA, M. T. G., DE MELO, G. de A. N., FERNANDES, A. C. B. D. S., *et al.* "Systematic review and meta-analysis on *Schistosoma mansoni* infection prevalence, and associated risk factors in Brazil", **Parasitology**, v. 145, n. 8, p. 1000–1014, 2018.
- CHEEVER, A. W., HOFFMANN, K. F., WYNN, T. A. "Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men", **Immunology today**, v. 21, n. 9, p. 465–466, 2000.
- CHEN, F., LIU, Z., WU, W., *et al.* "An essential role for TH 2-type responses in limiting acute tissue damage during experimental helminth infection", **Nature medicine**, v. 18, n. 2, p. 260–266, 2012.
- CHOI, J.-P., LEE, S.-M., CHOI, H.-I., *et al.* "House dust mite-derived chitin enhances Th2 cell response to inhaled allergens, mainly via a TNF- $\alpha$ -dependent pathway", **Allergy, asthma & immunology research**, v. 8, n. 4, p. 362–374, 2016.
- CHUAH, Candy, JONES, M. K., BURKE, M. L., *et al.* "Cellular and chemokine-mediated regulation in schistosome-induced hepatic pathology", **Trends in parasitology**, v. 30, n. 3, p. 141–150, 2014.
- CLARKE, N. E., CLEMENTS, A. C. A., AMARAL, S., *et al.* "(S)WASH-D for Worms: A pilot study investigating the differential impact of school- versus community-based integrated control programs for soil-transmitted helminths", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 5, 3 maio 2018.
- COELHO, P M Z. "Relação molusco/parasita: resistência e susceptibilidade à infecção por *Schistosoma mansoni* em caramujos do gênero Biomphalaria", **Tópicos em Malacologia Médica**, 1995.
- COELHO, P. M.Z., CALDEIRA, R. L. "Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil", **Infectious Diseases of Poverty**, v. 5, n. 1, 4 jul. 2016.
- COELHO, Paulo Marcos Zech, SIQUEIRA, L. M. V., GRENFELL, R. F. Q., *et al.* "Improvement of POC-CCA interpretation by using lyophilization of urine from patients with *Schistosoma mansoni* low worm burden: towards an elimination of doubts about the concept of trace", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 6, p. e0004778, 2016.



COLLEY, D. G., ANDROS, T. S., CAMPBELL, C. H. "Schistosomiasis is more prevalent than previously thought: what does it mean for public health goals, policies, strategies, guidelines and intervention programs?", **Infectious diseases of poverty**, v. 6, n. 1, p. 1–8, 2017.

COLLEY, D. G., BUSTINDUY, A. L., SECOR, W. E., *et al.* "Human schistosomiasis", **The Lancet**, v. 383, n. 9936, p. 2253–2264, 2014.

COOPER, P J. "Intestinal worms and human allergy", **Parasite immunology**, v. 26, n. 11–12, p. 455–467, 2004.

COOPER, P J. "Toxocara canis infection: an important and neglected environmental risk factor for asthma?", **Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, v. 38, n. 4, p. 551–553, 2008.

COOPER, P J, BARRETO, M. L., RODRIGUES, L. C. "Human allergy and geohelminth infections: a review of the literature and a proposed conceptual model to guide the investigation of possible causal associations", **British medical bulletin**, v. 79, n. 1, p. 203–218, 2006.

COOPER, P J, RODRIGUES, L. C., CRUZ, A. A., *et al.* "Asthma in Latin America: a public health challenge and research opportunity", **Allergy**, v. 64, n. 1, p. 5–17, 2009.

COOPER, Philip J, CHICO, M. E., RODRIGUES, L. C., *et al.* "Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 111, n. 5, p. 995–1000, 2003.

COOPER, Philip J, CHICO, M. E., SANDOVAL, C., *et al.* "Human infection with *Ascaris lumbricoides* is associated with a polarized cytokine response", **The Journal of infectious diseases**, v. 182, n. 4, p. 1207–1213, 2000.

COOPER, Philip J, CHICO, M. E., VACA, M. G., *et al.* "Risk factors for asthma and allergy associated with urban migration: background and methodology of a cross-sectional study in Afro-Ecuadorian school children in Northeastern Ecuador (Esmeraldas-SCAALA Study)", **BMC pulmonary medicine**, v. 6, n. 1, p. 1–9, 2006.

COOPER, Philip J, MONCAYO, A. L., GUADALUPE, I., *et al.* "Repeated treatments with albendazole enhance Th2 responses to *Ascaris Lumbricoides*, but not to aeroallergens, in children from rural communities in the Tropics", **Journal of Infectious Diseases**, v. 198, n. 8, p. 1237–1242, 2008.

CORREA-OLIVEIRA, R., MALAQUIAS, L. C. C., FALCAO, P. L., *et al.* "Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *Schistosoma mansoni* infection", **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 31, p. 171–177, 1998.

COSTAIN, A. H., MACDONALD, A. S., SMITS, H. H. "Schistosome egg migration: mechanisms, pathogenesis and host immune responses", **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 3042, 2018.

COURA, J Rodrigues, CAMILLO-COURA, L., KALACHE, A., *et al.* "Esquistossomose aguda autóctone de foco na cidade do Rio de Janeiro: Estudo de 22 casos", **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 4, p. 387–397, 1970.

COURA, José Rodrigues, AMARAL, R. S. "Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas", **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 13–19, 2004.

COURA, José Rodrigues, CONCEIÇÃO, M. J., SANTOS, M. L. dos, *et al.* "Cross-sectional and evolutive studies of schistosomiasis mansoni in untreated and mass treated endemic areas in the southeast and northeast of Brazil", **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 87, p. 175–182, 1992.

COURA-FILHO, P., FARAH, M. W. C., REZENDE, D. F. de, *et al.* "Environmental and social determinants in schistosomiasis mansoni in Ravena, Minas Gerais, Brazil", **Cadernos de saude publica**, v. 11, n. 2, p. 254–265, 1995.

CRELLEN, T., ALLAN, F., DAVID, S., *et al.* "Whole genome resequencing of the human parasite *Schistosoma mansoni* reveals population history and effects of selection", **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1–13, 2004.

CRELLEN, T., WALKER, M., LAMBERTON, P. H. L., *et al.* "Reduced efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* is associated with multiple rounds of mass drug administration", **Clinical infectious diseases**, v. 63, n. 9, p. 1151–1159, 2016.

CRUZ, A. A., COOPER, P. J., FIGUEIREDO, C. A., *et al.* "Global issues in allergy and immunology: parasitic infections and allergy", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 140, n. 5, p. 1217–1228, 2017.

DA COSTA SANTIAGO, H., NUTMAN, T. B. "Role in allergic diseases of immunological cross-reactivity between allergens and homologues of parasite proteins", **Critical Reviews™ in Immunology**, v. 36, n. 1, 2016.

DAGOYE, D., BEKELE, Z., WOLDEMICHAEL, K., *et al.* "Wheezing, allergy, and parasite infection in children in urban and rural Ethiopia", **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 167, n. 10, p. 1369–1373, 2003.

DANSO-APPIAH, A., DJIRMAY GARBA, A., ORSO, M., *et al.* "PREVALENCE THRESHOLD THAT SHOULD BE APPLIED WHEN DECIDING SCHISTOSOMIASIS MASS DRUG ADMINISTRATION: SYSTEMATIC REVIEW AND", **medrxiv.org**, 2021.

DE ANDRADE, C. M., CARNEIRO, V. L., CERQUEIRA, J. v, *et al.* "Parasites and allergy: observations from Brazil", **Parasite immunology**, v. 41, n. 6, p. e12588, 2019.

DE JESUS, A. R., SILVA, A., SANTANA, L. B., *et al.* "Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni", **The Journal of infectious diseases**, v. 185, n. 1, p. 98–105, 2002.

DE KOUCHKOVSKY, D. A., GHOSH, S., ROTHLIN, C. v. "Negative regulation of type 2 immunity", **Trends in immunology**, v. 38, n. 3, p. 154–167, 2017.

DE VLAS, S. J., GRYSEELS, B. "Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences", **Parasitology Today**, v. 8, n. 8, p. 274–277, 1992.

- DECKERS, J., DE BOSSCHER, K., LAMBRECHT, B. N., *et al.* "Interplay between barrier epithelial cells and dendritic cells in allergic sensitization through the lung and the skin", **Immunological reviews**, v. 278, n. 1, p. 131–144, 2017.
- DEOL, A. K., FLEMING, F. M., CALVO-URBANO, B., *et al.* "Schistosomiasis — Assessing Progress toward the 2020 and 2025 Global Goals", **New England Journal of Medicine**, v. 381, n. 26, p. 2519–2528, 26 dez. 2019.
- DESLYPER, G., DOHERTY, D. G., CAROLAN, J. C., *et al.* "The role of the liver in the migration of parasites of global significance", **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2019.
- DESSEIN, A. J., MARQUET, S., HENRI, S., *et al.* "Infection and disease in human schistosomiasis mansoni are under distinct major gene control", 1999.
- DOETZE, A., SATOQUINA, J., BURCHARD, G., *et al.* "Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in a chronic human helminth infection is mediated by Th3/Tr1-type cytokines IL-10 and transforming growth factor- $\beta$  but not by a Th1 to Th2 shift", **International immunology**, v. 12, n. 5, p. 623–630, 2000.
- DOETZE, A., SATOQUINA, J., BURCHARD, G., *et al.* "Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in a chronic human helminth infection is mediated by Th3/Tr1-type cytokines IL-10 and transforming growth factor- $\beta$  but not by a Th1 to Th2 shift", **International immunology**, v. 12, n. 5, p. 623–630, 2000.
- DOS SANTOS, A. A., GURGEL-GONÇALVES, R., MACHADO, E. R. "Factors associated with the occurrence of intestinal parasites in children living in the Federal District of Brazil", **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 43, n. 1, p. 89–97, 2014.
- DOS SANTOS COSTA, R., FIGUEIREDO, C. A., BARRETO, M. L., *et al.* "Effect of polymorphisms on TGFB1 on allergic asthma and helminth infection in an African admixed population", **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 118, n. 4, p. 483–488, 2017.
- DRUMMOND, S. C., SILVA, L. C. dos S., AMARAL, R. S. do, *et al.* "Morbidity of schistosomiasis mansoni in the state of Minas Gerais, Brazil", **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 37–44, 2006.
- DUNNE, D. W., COOKE, A. "A worm's eye view of the immune system: consequences for evolution of human autoimmune disease", **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 5, p. 420–426, 2005.
- DUNNE, D. W., PEARCE, E. J. "Immunology of hepatosplenic schistosomiasis mansoni: a human perspective", **Microbes and infection**, v. 1, n. 7, p. 553–560, 1999.
- EL-SAYED, N. M., FATHY, G. M., ABDEL-RAHMAN, S. A.-R., *et al.* "Cytokine patterns in experimental schistosomiasis mansoni infected mice treated with silymarin", **Journal of Parasitic Diseases**, v. 40, n. 3, p. 922–929, 2016.

- ENDARA, P, VACA, M., CHICO, M. E., *et al.* "Long-term periodic anthelmintic treatments are associated with increased allergen skin reactivity", **Clinical & Experimental Allergy**, v. 40, n. 11, p. 1669–1677, 2010.
- ENDARA, Pablo, VACA, M., PLATTS-MILLS, T. A. E., *et al.* "Effect of urban vs. rural residence on the association between atopy and wheeze in Latin America: findings from a case–control analysis", **Clinical & Experimental Allergy**, v. 45, n. 2, p. 438–447, 2015.
- ENK, M. J., LIMA, A. C. L., BARROS, H. da S., *et al.* "Factors related to transmission of and infection with *Schistosoma mansoni* in a village in the South-eastern Region of Brazil", **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 570–577, 2010.
- ESPIIRITO-SANTO, M. C. C., ALVARADO-MORA, M. V., DIAS-NETO, E., *et al.* "Evaluation of real-time PCR assay to detect *Schistosoma mansoni* infections in a low endemic setting", **BMC Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2014.
- EVANS, H., MITRE, E. "Worms as therapeutic agents for allergy and asthma: understanding why benefits in animal studies have not translated into clinical success", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 2, p. 343–353, 2015.
- EVERTS, B., PERONA-WRIGHT, G., SMITS, H. H., *et al.* "Omega-1, a glycoprotein secreted by *Schistosoma mansoni* eggs, drives Th2 responses", **Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 8, p. 1673–1680, 2009.
- EXUM, N. G., KIBIRA, S. P. S., SSENYONGA, R., *et al.* "The prevalence of schistosomiasis in Uganda: A nationally representative population estimate to inform control programs and water and sanitation interventions", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, 2019.
- FAGUNDES TEIXEIRA, C., NEUHAUSS, E., BEN, R., *et al.* "Detection of *Schistosoma mansoni* eggs in feces through their interaction with paramagnetic beads in a magnetic field", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 1, n. 2, p. e73, 2007.
- FALCÃO, P. L., CORREA-OLIVEIRA, R., FRAGA, L. A. O., *et al.* "Plasma concentrations and role of macrophage inflammatory protein–1 $\alpha$  during chronic *Schistosoma mansoni* infection in humans", **The Journal of infectious diseases**, v. 186, n. 11, p. 1696–1700, 2002.
- FAVRE, T. C., FERNANDEZ, M. A., BECK, L. C. N. H., *et al.* "Assessment of schistosomiasis in the semi-arid Northeast region of Brazil: the São Francisco River large-scale water transposition project", **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 252–257, 2016.
- FEARY, J., BRITTON, J., LEONARDI-BEE, J. "Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis", **Allergy**, v. 66, n. 4, p. 569–578, 2011.
- FERNANDES, J. S., ARAUJO, M. I., LOPES, D. M., *et al.* "Monocyte subsets in schistosomiasis patients with periportal fibrosis", **Mediators of inflammation**, v. 2014, 2014.

FIGUEIREDO, Camila A, ALCANTARA-NEVES, N. M., AMORIM, L. D., *et al.* "Evidence for a modulatory effect of IL-10 on both Th1 and Th2 cytokine production: the role of the environment", **Clinical Immunology**, v. 139, n. 1, p. 57–64, 2011.

FIGUEIREDO, Camila Alexandrina, ALCÂNTARA-NEVES, N. M., VEIGA, R., *et al.* "Spontaneous cytokine production in children according to biological characteristics and environmental exposures", **Environmental health perspectives**, v. 117, n. 5, p. 845–849, 2009.

FIGUEIREDO, Camila Alexandrina, AMORIM, L. D., ALCANTARA-NEVES, N. M., *et al.* "Environmental conditions, immunologic phenotypes, atopy, and asthma: new evidence of how the hygiene hypothesis operates in Latin America", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 131, n. 4, p. 1064–1068, 2013.

FIGUEIREDO, Camila Alexandrina, BARRETO, M. L., ALCANTARA-NEVES, N. M., RODRIGUES, L. C., COOPER, P. J., CRUZ, A. A., PONTES-DE-CARVALHO, L. C., LEMAIRE, D. C., DOS SANTOS COSTA, R., AMORIM, L. D., *et al.* "Coassociations between IL10 polymorphisms, IL-10 production, helminth infection, and asthma/wheeze in an urban tropical population in Brazil", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 131, n. 6, p. 1683–1690, 2013.

FIGUEIREDO, Camila Alexandrina, BARRETO, M. L., RODRIGUES, L. C., *et al.* "Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network", **Infection and immunity**, v. 78, n. 7, p. 3160–3167, 2010.

FITZSIMMONS, C. M., FALCONE, F. H., DUNNE, D. W. "Helminth allergens, parasite-specific IgE, and its protective role in human immunity", **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. FEB, 2014.

FLEMING, F. M., FENWICK, A., TUKAHEBWA, E. M., *et al.* "Process evaluation of schistosomiasis control in Uganda, 2003 to 2006: perceptions, attitudes and constraints of a national programme", **Parasitology**, v. 136, n. 13, p. 1759–1769, 2009.

FLOHR, C., TUYEN, L. N., QUINNELL, R. J., *et al.* "Reduced helminth burden increases allergen skin sensitization but not clinical allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Vietnam", **Clinical & Experimental Allergy**, v. 40, n. 1, p. 131–142, 2010.

FLOHR, T. G., MCCOLLOUGH, C. H., BRUDER, H., *et al.* "First performance evaluation of a dual-source CT (DSCT) system", **European radiology**, v. 16, n. 2, p. 256–268, 2006.

FRANCISCO, I., JIZ, M., ROSENBAUM, M., *et al.* "Knowledge, attitudes and practices related to schistosomiasis transmission and control in Leyte, Philippines", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 5, 1 maio 2019. DOI: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0007358. Acesso em: 23 out. 2021.

FRENCH, M. D., EVANS, D., FLEMING, F. M., *et al.* "Schistosomiasis in Africa: Improving strategies for long-term and sustainable morbidity control", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 6, 1 jun. 2018.

FUJIMURA, K. E., LYNCH, S. v. "Microbiota in allergy and asthma and the emerging relationship with the gut microbiome", **Cell host & microbe**, v. 17, n. 5, p. 592–602, 2015.

- GAUSE, W. C., WYNN, T. A., ALLEN, J. E. "Type 2 immunity and wound healing: evolutionary refinement of adaptive immunity by helminths", **Nature Reviews Immunology**, v. 13, n. 8, p. 607–614, 2013.
- GAZZINELLI, A., VELASQUEZ-MELENDZ, G., CRAWFORD, S. B., *et al.* "Socioeconomic determinants of schistosomiasis in a poor rural area in Brazil", **Acta tropica**, v. 99, n. 2–3, p. 260–271, 2006a.
- GONÇALVES, J. A., TARDIVO, R., BELLO, H. J. S., *et al.* "Influence of seasonality on helminthiasis and performance of Nellore steers kept in silvopastoral system", **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 2712–2731, 2020.
- GRAEFF-TEIXEIRA, C., FAVERO, V., DE SOUZA, R. P., *et al.* "Use of *Schistosoma mansoni* soluble egg antigen (SEA) for antibody detection and diagnosis of schistosomiasis: The need for improved accuracy evaluations of diagnostic tools", **Acta Tropica**, p. 105800, 2020.
- GRAY, D., MCMANUS, D., LI, Y., *et al.* "Schistosomiasis elimination: lessons from the past guide the future", **Elsevier**, 2010.
- GRIMES, J. E. T., CROLL, D., HARRISON, W. E., *et al.* "The relationship between water, sanitation and schistosomiasis: a systematic review and meta-analysis", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 12, p. e3296, 2014.
- GRINSZTEJN, B., DE CASTRO, N., ARNOLD, V., *et al.* "4 Hamburger J, Turetski T, Kapeller I, Deresiewicz. Highly repeated short DNA sequences in the genome of *Schistosoma mansoni* recognized by a species specific probe. *Mol Biochem Parasitol* 1991; 44: 73–80. 5 Pontes LA, Dias-Neto E, Rabello A. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces.", **Am J Trop Med Hyg**, v. 66, p. 157–162, 2002.
- GRYSEELS, B., POLMAN, K., CLERINX, J., *et al.* "Human schistosomiasis", **The Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1106–1118, 2006.
- GRZYCH, J.-M., PEARCE, E., CHEEVER, A., *et al.* "Egg deposition is the major stimulus for the production of Th2 cytokines in murine schistosomiasis mansoni.", **The Journal of Immunology**, v. 146, n. 4, p. 1322–1327, 1991.
- HAAHTELA, T., HOLGATE, S., PAWANKAR, R., *et al.* "The biodiversity hypothesis and allergic disease: world allergy organization position statement", **World Allergy Organization Journal**, v. 6, n. 1, p. 1–18, 2013.
- HAGEL, I., CABRERA, M., HURTADO, M. A., *et al.* "Infection by *Ascaris lumbricoides* and bronchial hyper reactivity: an outstanding association in Venezuelan school children from endemic areas", **Acta tropica**, v. 103, n. 3, p. 231–241, 2007.
- HAMBURGER, J., TURETSKI, T., KAPELLER, I., *et al.* "Highly repeated short DNA sequences in the genome of *Schistosoma mansoni* recognized by a species-specific probe", **Molecular and biochemical parasitology**, v. 44, n. 1, p. 73–80, 1991.

- HAMMAD, H., LAMBRECHT, B. N. "Barrier epithelial cells and the control of type 2 immunity", **Immunity**, v. 43, n. 1, p. 29–40, 2015.
- HAMS, E, AVIELLO, G., FALLON, P. G. **The schistosoma granuloma: friend or foe?** **Front Immunol.** **2013; 4: 89.** [S.l.], Epub 2013/04/19. , 2013
- HANSKI, I, VON HERTZEN, L., FYHRQUIST, N., *et al.* "Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated", **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 21, p. 8334–8339, 2012.
- HARADA, M., HIROTA, T., JODO, A. I., *et al.* "Thymic stromal lymphopoietin gene promoter polymorphisms are associated with susceptibility to bronchial asthma", **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 44, n. 6, p. 787–793, 2011.
- HASTIE, A. T., MOORE, W. C., LI, H., *et al.* "Biomarker surrogates do not accurately predict sputum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 132, n. 1, p. 72–80, 2013.
- HEINRICH, J., POPESCU, M. A., WJST, M., *et al.* "Atopy in children and parental social class.", **American Journal of Public Health**, v. 88, n. 9, p. 1319–1324, 1998.
- HIATT, R. A., OTTESEN, E. A., SOTOMAYOR, Z. R., *et al.* "Serial observations of circulating immune complexes in patients with acute schistosomiasis", **Journal of Infectious Diseases**, v. 142, n. 5, p. 665–670, 1980.
- HIATT, R. A., SOTOMAYOR, Z. R., SANCHEZ, G., *et al.* "Factors in the pathogenesis of acute schistosomiasis mansoni", **Journal of Infectious Diseases**, v. 139, n. 6, p. 659–666, 1979.
- HOFFMAN, W. A., PONS, J. A., JANER, J. L. "The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni", 1934.
- HOLGATE, S. T., DENT, G., BUCKLEY, M. G., "Asthma". **Principles of Molecular Medicine**, [S.l.], Springer, p. 198–213, 2006.
- HOLT, P. G., MACAUBAS, C., STUMBLES, P. A., *et al.* "The role of allergy in the development of asthma", **Nature**, v. 402, n. 6760, p. 12–17, 1999.
- HOOPER, L. v, LITTMAN, D. R., MACPHERSON, A. J. "Interactions between the microbiota and the immune system", **science**, v. 336, n. 6086, p. 1268–1273, 2012.
- HOSMER, D. W., JOVANOVIC, B., LEMESHOW, S. "Best subsets logistic regression", **Biometrics**, p. 1265–1270, 1989.
- HOTEZ, P. J., BOTTAZZI, M. E., FRANCO-PAREDES, C., *et al.* "The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 2, n. 9, p. e300, 2008.

- HUNNINGHAKE, G. M., SOTO-QUIROS, M. E., AVILA, L., *et al.* "Sensitization to *Ascaris lumbricoides* and severity of childhood asthma in Costa Rica", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 119, n. 3, p. 654–661, 2007.
- IGETEI, J. E., EL-FAHAM, M., LIDDELL, S., *et al.* "Antigenic cross-reactivity between *Schistosoma mansoni* and peanut: a role for cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) and implications for the hygiene hypothesis", **Immunology**, v. 150, n. 4, p. 506–517, 2017.
- ILIEV, I. D., MILETI, E., MATTEOLI, G., *et al.* "Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning", **Mucosal immunology**, v. 2, n. 4, p. 340–350, 2009.
- ILIEV, I. D., SPADONI, I., MILETI, E., *et al.* "Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells", **Gut**, v. 58, n. 11, p. 1481–1489, 2009.
- INCANI, R., PARASITOLOGY, D. M.-I. journal for, 1984, undefined. "Histopathological and ultrastructural studies of cutaneous reactions elicited in naive and chronically infected mice by invading schistosomula of *Schistosoma mansoni* ", **Elsevier**, 1984.
- JACKSON, J. A., FRIBERG, I. M., LITTLE, S., *et al.* "Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies?", **Immunology**, v. 126, n. 1, p. 18–27, 2009.
- JARRETT, E., MACKENZIE, S., BENNICH, H. "Parasite-induced 'nonspecific' IgE does not protect against allergic reactions", **Nature**, v. 283, n. 5744, p. 302–303, 1980.
- JENKINS, S. J., HEWITSON, J. P., JENKINS, G. R., *et al.* "Modulation of the host's immune response by schistosome larvae", **Parasite Immunology**, v. 27, n. 10–11, p. 385–393, out. 2005.
- KABAT, A. M., SRINIVASAN, N., MALOY, K. J. "Modulation of immune development and function by intestinal microbiota", **Trends in immunology**, v. 35, n. 11, p. 507–517, 2014.
- KATZ, N, CHAVES, A., PELLEGRINO, J. "A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*.", **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 14, n. 6, p. 397–400, 1972.
- KATZ, Naftale, ALMEIDA, K. "Esquistossomose, xistosa, barriga d'água", **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 1, p. 38–43, 2003.
- KATZ, Naftale, OTHERS. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelminthoses**. [S.l.], Centro de Pesquisa René Rachou. , 2018
- KAY, A. B., YING, S., VARNEY, V., *et al.* "Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3), IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects.", **The Journal of experimental medicine**, v. 173, n. 3, p. 775–778, 1991.



KHAN, A. R., FALLON, P. G. "Helminth therapies: translating the unknown unknowns to known knowns", **International journal for parasitology**, v. 43, n. 3–4, p. 293–299, 2013.

KING, C. H. "Toward the Elimination of Schistosomiasis", **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 2, p. 106–109, 8 jan. 2009.

KING, C., MEDHAT, A., MALHOTRA, I., *et al.* "Cytokine control of parasite-specific anergy in human urinary schistosomiasis. IL-10 modulates lymphocyte reactivity.", **Am Assoc Immunol**, 1996.

KITTUR, N., KING, C., ... C. C. J.-T. A. journal, *et al.* "Persistent hotspots in schistosomiasis consortium for operational research and evaluation studies for gaining and sustaining control of schistosomiasis after", **ncbi.nlm.nih.gov**, 2019.

KLIŚ, K., ŻURAWIECKA, M., SUDER, A., *et al.*, "Influence of socioeconomic factors on self-reported prevalence of allergic diseases among female university students". **Clinical Research and Practice**, [S.l.], Springer, p. 17–24. 2017.

KUSCHNIR, F. C., GURGEL, R. Q., SOLÉ, D., *et al.* "ERICA: prevalence of asthma in Brazilian adolescents", **Revista de saude publica**, v. 50, 2016.

LAI, Y.-S., BIEDERMANN, P., EKPO, U. F., *et al.* "Spatial distribution of schistosomiasis and treatment needs in sub-Saharan Africa: a systematic review and geostatistical analysis", **The Lancet infectious diseases**, v. 15, n. 8, p. 927–940, 2015.

LAMBRECHT, B. N., HAMMAD, H. "The immunology of the allergy epidemic and the hygiene hypothesis", **Nature immunology**, v. 18, n. 10, p. 1076–1083, 2017.

LAYLAND, L. E., RAD, R., WAGNER, H., *et al.* "Immunopathology in schistosomiasis is controlled by antigen-specific regulatory T cells primed in the presence of TLR2", **European journal of immunology**, v. 37, n. 8, p. 2174–2184, 2007.

LEÓN, A. L., ASCUNTAR-TELLO, J., VALDERRAMA-MOLINA, C. O., *et al.* "Grouping of body areas affected in traffic accidents. A cohort study", **Journal of clinical orthopaedics and trauma**, v. 9, p. S49–S55, 2018.

LEONARDI-BEE, J, PRITCHARD, D., BRITTON, J. "Collaboration PiA. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis", **Am J Respir Crit Care Med**, v. 174, n. 5, p. 514–523, 2006.

LEONARDI-BEE, Jo, PRITCHARD, D., BRITTON, J., IN ASTHMA COLLABORATION, P. "Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis", **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514–523, 2006.

LEONARDI-BEE, Jo, PRITCHARD, D., BRITTON, J., COLLABORATION, P. in A. "Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis", **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 174, n. 5, p. 514–523, 2006.

- LYNCH, N. R., HAGEL, I. A., PALENQUE, M. E., *et al.* "Relationship between helminthic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 101, n. 2, p. 217–221, 1998.
- LYNCH, S. v, BOUSHEY, H. A. "The microbiome and development of allergic disease", **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 16, n. 2, p. 165, 2016.
- MACPHERSON, A. J., HARRIS, N. L. "Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system", **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 6, p. 478–485, 2004.
- MAGUETA, E. B., MIRANDA, A., CARVALHO, R. A. S., *et al.* "Risk Factors to Schistosomiasis in Communities from Minas Gerais State, Brazil: The Importance of Baseline Studies for Evaluations in the Endemic Area", **Journal of Medical and Biological Science Research**, v. 1, n. 6, p. 62–70, 2015.
- MAHANTY, S., NUTMAN, T. B. "Immunoregulation in human lymphatic filariasis: the role of interleukin 10", **Parasite immunology**, v. 17, n. 8, p. 385–392, 1995.
- MAIZELS, R. M. "Parasitic helminth infections and the control of human allergic and autoimmune disorders", **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 6, p. 481–486, 2016.
- MAIZELS, R. M., MCSORLEY, H. J. "Regulation of the host immune system by helminth parasites", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 138, n. 3, p. 666–675, 2016.
- MAIZELS, R. M., SMITS, H. H., MCSORLEY, H. J. "Modulation of host immunity by helminths: the expanding repertoire of parasite effector molecules", **Immunity**, v. 49, n. 5, p. 801–818, 2018.
- MAIZELS, R., YAZDANBAKHS, M. "T-cell regulation in helminth parasite infections: implications for inflammatory diseases", **T Cell Regulation in Allergy, Asthma and Atopic Skin Diseases**, v. 94, p. 112–123, 2008.
- MALAQUIAS, L. C. C., FALCAO, P. L., SILVEIRA, A. M. S., *et al.* "Cytokine regulation of human immune response to *Schistosoma mansoni* : analysis of the role of IL-4, IL-5 and IL-10 on peripheral blood mononuclear cell responses", **Scandinavian journal of immunology**, v. 46, n. 4, p. 393–398, 1997.
- MARINHO, F. V., ALVES, C. C., DE SOUZA, S. C., *et al.* "*Schistosoma mansoni* tegument (Smteg) induces IL-10 and modulates experimental airway inflammation", **PloS one**, v. 11, n. 7, p. e0160118, 2016.
- MASAKU, J., NJOMO, D. W., NJOKA, A., *et al.* "Soil-transmitted helminths and schistosomiasis among pre-school age children in a rural setting of Busia County, Western Kenya: a cross-sectional study of prevalence, and associated exposures", **BMC public health**, v. 20, n. 1, p. 1–11, 2020.
- MATRICARDI, P. M., FRANZINELLI, F., FRANCO, A., *et al.* "Sibship size, birth order, and atopy in 11,371 Italian young men", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 101, n. 4, p. 439–444, 1998.

MBOW, M., LARKIN, B. M., MEURS, L., *et al.* "T-helper 17 cells are associated with pathology in human schistosomiasis", **The Journal of infectious diseases**, v. 207, n. 1, p. 186–195, 2013.

MCMANUS, D. P., BERGQUIST, R., CAI, P., *et al.* "Schistosomiasis—from immunopathology to vaccines". 42, 2020. **Anais [...]** [S.l.], Springer, p. 355–371. 2020.

MCMANUS, D. P., GORDON, C., WEERAKOON, K. G. A. D. "Testing of water samples for environmental DNA as a surveillance tool to assess the risk of schistosome infection in a locality", **International Journal of Infectious Diseases**, v. 76, p. 128–129, 2018.

MCSORLEY, H. J., BLAIR, N. F., ROBERTSON, E., *et al.* "Suppression of OVA-alum induced allergy by *Heligmosomoides polygyrus* products is MyD88-, TRIF-, regulatory T- and B cell-independent, but is associated with reduced innate lymphoid cell activation", **Experimental parasitology**, v. 158, p. 8–17, 2015.

MCSORLEY, H. J., BLAIR, N. F., SMITH, K. A., *et al.* "Blockade of IL-33 release and suppression of type 2 innate lymphoid cell responses by helminth secreted products in airway allergy", **Mucosal immunology**, v. 7, n. 5, p. 1068–1078, 2014.

MCSORLEY, H. J., CHAYÉ, M. A. M., SMITS, H. H. "Worms: Pernicious parasites or allies against allergies?", **Parasite immunology**, v. 41, n. 6, p. e12574, 2019.

MCSORLEY, H. J., MAIZELS, R. M. "Helminth infections and host immune regulation", **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 4, p. 585–608, 2012.

MEDEIROS JR, M., FIGUEIREDO, J. P., ALMEIDA, M. C., *et al.* "*Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 111, n. 5, p. 947–951, 2003.

MEDZHITOV, R., SCHNEIDER, D. S., SOARES, M. P. "Disease tolerance as a defense strategy", **Science**, v. 335, n. 6071, p. 936–941, 2012.

MENDONÇA, L. R., VEIGA, R. V., DATTOLI, V. C. C., *et al.* "Toxocara seropositivity, atopy and wheezing in children living in poor neighbourhoods in urban Latin American", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 11, p. e1886, 2012.

MINGOMATAJ, E. C., XHIXHA, F., GJATA, E. "Helminths can protect themselves against rejection inhibiting hostile respiratory allergy symptoms", **Allergy**, v. 61, n. 4, p. 400–406, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, M. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii: diretrizes técnicas**. [S.l.], MS Brasília., 2014

MIRANDA, G. S., RESENDE, S. D., CARDOSO, D. T., *et al.* "Previous History of American Tegumentary Leishmaniasis Alters Susceptibility and Immune Response Against *Schistosoma mansoni* Infection in Humans", **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 638, 2021.

MONTENEGRO, S. M. L., MIRANDA, P., MAHANTY, S., *et al.* "Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni: the cross-regulatory role of interferon- $\gamma$  and

interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens", **The Journal of infectious diseases**, v. 179, n. 6, p. 1502–1514, 1999.

MORALES-SUAREZ-VARELA, M., PERAITA-COSTA, I., LLOPIS-MORALES, A., *et al.* "Supplementation with micronutrients and schistosomiasis: systematic review and meta-analysis", **Pathogens and global health**, v. 113, n. 3, p. 101–108, 2019.

NACIFE, M., LEITE, S., ... L. S.-R. do I., *et al.* "Prevalence of schistosomiasis mansoni in indigenous Maxakali villages, Minas Gerais, Brazil", **SciELO Brasil**, 1998.

NADY, S., ESMAT, G. "IL-17 Induced The Recruitment and Functional Activity of Granulocytes Isolated from Patients Coinfected with *Schistosoma mansoni* and Hepatitis C Virus", **EGYPTIAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY**, v. 24, n. 1, p. 9–20, 2017.

NAKAGOMI, T. "Is atopy increasing?", **Lancet**, v. 343, p. 121–122, 1994.

NEGRÃO-CORRÊA, D., FITTIPALDI, J. F., LAMBERTUCCI, J. R., *et al.* "Association of *Schistosoma mansoni* -specific IgG and IgE antibody production and clinical schistosomiasis status in a rural area of Minas Gerais, Brazil", **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e88042, 2014.

NEMATIAN, J., NEMATIAN, E., GHOLAMREZANEZHAD, A., *et al.* "Prevalence of intestinal parasitic infections and their relation with socio-economic factors and hygienic habits in Tehran primary school students", **Acta tropica**, v. 92, n. 3, p. 179–186, 2004.

NEPAL, P., OJILI, V., SONGMEN, S., *et al.* "Multisystem imaging review of human schistosomiasis: characteristic imaging findings", **Clinical imaging**, v. 54, p. 163–171, 2019.

NKURUNUNGI, G., VAN DIEPEN, A., NASSUUNA, J., *et al.* "Microarray assessment of N-glycan-specific IgE and IgG profiles associated with *Schistosoma mansoni* infection in rural and urban Uganda", **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.

NOVATO-SILVA, E., GAZZINELLI, G., COLLEY, D. G. "Immune responses during human schistosomiasis mansoni. XVIII. Immunologic status of pregnant women and their neonates", **Scandinavian journal of immunology**, v. 35, n. 4, p. 429–437, 1992.

NOVATO-SILVA, E., GAZZINELLI, G., COLLEY, D. G. "Immune Responses During Human Schistosomiasis Mansoni. XVIII. Immunologic Status of Pregnant Women and Their Neonates", **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 35, n. 4, p. 429–437, 1992.

NOYA, Oscar, KATZ, N., POINTIER, J. P., *et al.*, "Schistosomiasis in America". **Neglected tropical diseases-Latin America and the Caribbean**, [S.l.], Springer, p. 11–43. 2015.

NUTMAN, T. B. "Looking beyond the induction of Th2 responses to explain immunomodulation by helminths", **Parasite immunology**, v. 37, n. 6, p. 304–313, 2015.

O'CONNELL, E. J. "The burden of atopy and asthma in children", **Allergy**, v. 59, p. 7–11, 2004.

OLIVEIRA, S. M. de, BEZERRA, F. S. de M., CARNEIRO, T. R., *et al.* "Association between allergic responses and *Schistosoma mansoni* infection in residents in a low-endemic setting in Brazil", **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, p. 770–774, 2014.

OLIVEIRA, W. J., MAGALHÃES, F. do C., ELIAS, A. M. S., *et al.* "Evaluation of diagnostic methods for the detection of intestinal schistosomiasis in endemic areas with low parasite loads: Saline gradient, Helmintex, Kato-Katz and rapid urine test", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 12, n. 2, p. e0006232, 2018.

ORGANIZATION, W. H. "Schistosomiasis: number of people treated worldwide in 2013", **Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire**, v. 90, n. 05, p. 25–32, 2015.

PABALAN, N., SINGIAN, E., TABANGAY, L., *et al.* "Soil-transmitted helminth infection, loss of education and cognitive impairment in school-aged children: A systematic review and meta-analysis", **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 1, 1 jan. 2018.

PACÍFICO, L. G. G., MARINHO, F. A. v, FONSECA, C. T., *et al.* "Schistosoma mansoni antigens modulate experimental allergic asthma in a murine model: a major role for CD4+ CD25+ Foxp3+ T cells independent of interleukin-10", **Infection and immunity**, v. 77, n. 1, p. 98–107, 2009.

PAIVA, T., VIEIRA, L., MELO, P., *et al.* "In Situ Incorporation of Praziquantel in Polymer Microparticles through Suspension Polymerization for Treatment of Schistosomiasis", **Macromolecular Reaction Engineering**, v. 13, n. 1, 1 fev. 2019.

PALM, N. W., ROSENSTEIN, R. K., MEDZHITOV, R. "Allergic host defences", **Nature**, v. 484, n. 7395, p. 465–472, 2012.

PARAENSE, W. L. "The schistosome vectors in the Americas", **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, p. 7–16, 2001.

PEARCE, E. J., MACDONALD, A. S. "The immunobiology of schistosomiasis", **Nature Reviews Immunology**, v. 2, n. 7, p. 499–511, 2002.

PEARCE, E. J., SHER, A. "Functional dichotomy in the CD4+ T cell response to "*Schistosoma mansoni*", **Experimental parasitology**, v. 73, n. 1, p. 110–116, 1991.

PEARCE, N., AL-KHALED, N., BEASLEY, R., *et al.* "Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)", **Thorax**, v. 62, n. 9, p. 758–766, 2007.

PEREIRA, M. U., SLY, P. D., PITREZ, P. M., *et al.* "Nonatopic asthma is associated with helminth infections and bronchiolitis in poor children", **European Respiratory Journal**, v. 29, n. 6, p. 1154–1160, 2007.

PONTE, E., FRANCO, R. A., SOUZA-MACHADO, A., *et al.* "Impacto de um programa para o controle da asma grave na utilização de recursos do Sistema Único de Saúde", **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, p. 15–19, 2007.

- PRÉFONTAINE, D., LAJOIE-KADOCH, S., FOLEY, S., *et al.* "Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells", **The Journal of Immunology**, v. 183, n. 8, p. 5094–5103, 2009.
- PULENDRAN, B., ARTIS, D. "New paradigms in type 2 immunity", **Science**, v. 337, n. 6093, p. 431–435, 2012.
- RABELLO, A., PONTES, L. A., ENK, M. J., *et al.* "Diagnóstico parasitológico, imunológico e molecular da esquistossomose mansoni", **OS Carvalho, PMZ Coelho, HL Lenzi, Schistosoma mansoni & esquistossomose, Fiocruz, Rio de Janeiro**, p. 897–925, 2008.
- RASO, G., ESSÉ, C., DONGO, K., *et al.* "An integrated approach to control soil-transmitted helminthiasis, schistosomiasis, intestinal protozoa infection, and diarrhea: Protocol for a cluster randomized", **researchprotocols.org**, 2018.
- RESENDE, S. D., MAGALHÃES, F. C., RODRIGUES-OLIVEIRA, J. L., *et al.* "Modulation of allergic reactivity in humans is dependent on *Schistosoma mansoni* parasite burden, low levels of IL-33 or TNF- $\alpha$  and high levels of IL-10 in serum", **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 3158, 2019.
- ROBINSON, D., HUMBERT, M., BUHL, R., *et al.* "Revisiting T type 2-high and T type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications", **Clinical & Experimental Allergy**, v. 47, n. 2, p. 161–175, 2017a.
- ROCHA, C. F. D., VRCIBRADIC, D., VICENTE, J. J., *et al.* "Helminths infecting *Mabuya dorsivittata* (Lacertilia, Scincidae) from a high-altitude habitat in Itatiaia National Park, Rio de Janeiro state, southeastern Brazil", **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 129–132, 2003.
- ROCK, M., YODER, S., HOSKINS, A., *et al.* "Effect of allergen challenge on the percentage of natural killer T cells in patients with atopic asthma", **Elsevier**, 2009.
- RODRIGUES, L. C., NEWCOMBE, P. J., CUNHA, S. S. da, *et al.* "Early infection with *Trichuris trichiura* and allergen skin test reactivity in later childhood", **Clinical & Experimental Allergy**, v. 38, n. 11, p. 1769–1777, 2008.
- RODRIGUES OLIVEIRA, J. L., TEIXEIRA, M. M., LAMBERTUCCI, J. R., *et al.* "Plasma levels of innate immune mediators are associated with liver fibrosis in low parasite burden *Schistosoma mansoni* -infected individuals", **Scandinavian journal of immunology**, v. 87, n. 3, p. e12642, 2018.
- ROMAGNANI, S. "Immunologic influences on allergy and the TH1/TH2 balance", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 113, n. 3, p. 395–400, 2004.
- ROOK, G. A. W. "Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis", **Immunology**, v. 126, n. 1, p. 3–11, 2009.
- ROSS, A., OLVEDA, R., ACOSTA, L., *et al.* "Road to the elimination of schistosomiasis from Asia: the journey is far from over", **Elsevier**, 2013.

ROUND, J. L., MAZMANIAN, S. K. "The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease", **Nature reviews immunology**, v. 9, n. 5, p. 313–323, 2009.

RUJENI, N., NAUSCH, N., MIDZI, N., *et al.* "*Schistosoma haematobium* infection levels determine the effect of praziquantel treatment on anti-schistosome and anti-mite antibodies", **Parasite Immunology**, v. 34, n. 6, p. 330–340, 2012.

RUJENI, Nadine, NAUSCH, N., BOURKE, C. D., *et al.* "Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of *Schistosoma haematobium* infection", **International archives of allergy and immunology**, v. 158, n. 3, p. 288–298, 2012.

RUTITZKY, L. I., STADECKER, M. J. "Exacerbated egg-induced immunopathology in murine *Schistosoma mansoni* infection is primarily mediated by IL-17 and restrained by IFN- $\gamma$ ", **European journal of immunology**, v. 41, n. 9, p. 2677–2687, 2011.

SACOLO-GWEBU, H., CHIMBARI, M., KALINDA, C. "Prevalence and risk factors of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis among preschool aged children (1-5 years) in rural KwaZulu-Natal, South Africa: A cross-sectional study", **Infectious Diseases of Poverty**, v. 8, n. 1, 16 jun. 2019.

SACOLO-GWEBU, H., KABUYAYA, M., CHIMBARI, M. "Knowledge, attitudes and practices on schistosomiasis and soil-transmitted helminths among caregivers in Ingwavuma area in uMkhanyakude district, South Africa", **BMC Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, 22 ago. 2019.

SAKASHITA, M., YOSHIMOTO, T., HIROTA, T., *et al.* "Association of serum interleukin-33 level and the interleukin-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis", **Clinical & Experimental Allergy**, v. 38, n. 12, p. 1875–1881, 2008.

SALAM, R., MIDDLETON, P., ... M. M.-C., *et al.* "PROTOCOL: Mass deworming for soil-transmitted helminths and schistosomiasis among pregnant women: a systematic review and individual participant data meta", **search.proquest.com**, v. 14, n. 1, p. 1–22, jan. 2018.

SANTANA, J. B., ALMEIDA, T. S., LOPES, D. M., *et al.* "Phenotypic characterization of CD4+ T lymphocytes in periportal fibrosis secondary to schistosomiasis", **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 37, 2021.

SANTOS, A. B. R., ROCHA, G. M., OLIVER, C., *et al.* "Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach", **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 121, n. 4, p. 1040–1046, 2008.

SANYA, R. E., NKURUNUNGI, G., ANDIA BIRARO, I., *et al.* "A life without worms", **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 111, n. 1, p. 3–11, 2017.

SAUGAR, J. M., MERINO, F. J., MARTÍN-RABADÁN, P., *et al.* "Application of real-time PCR for the detection of *Strongyloides* spp. in clinical samples in a reference center in Spain", **Acta tropica**, v. 142, p. 20–25, 2015.

SAWANT, D. v, GRAVANO, D. M., VOGEL, P., *et al.* "Regulatory T cells limit induction of protective immunity and promote immune pathology following intestinal helminth infection", **The Journal of Immunology**, v. 192, n. 6, p. 2904–2912, 2014.

SCHMIEDEL, Y., MOMBO-NGOMA, G., LABUDA, L. A., *et al.* "CD4+ CD25hiFOXP3+ regulatory T cells and cytokine responses in human schistosomiasis before and after treatment with praziquantel", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 8, p. e0003995, 2015.

SCHMITZ, J., OWYANG, A., OLDHAM, E., *et al.* "IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines", **Immunity**, v. 23, n. 5, p. 479–490, 2005.

SCHOLTE, R. G. C., CARVALHO, O. S., MALONE, J. B., *et al.* "Spatial distribution of Biomphalaria spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil", **Geospatial health**, v. 6, n. 3, p. S95–S101, 2012.

SCHROEDER, P. C., ILLI, S., CASACA, V. I., LLUIS, A., BOECK, A., RODUIT, C., DEPNER, M., FREI, R., GENUNEIT, J., PFEFFERLE, P. I., *et al.* "A switch in regulatory T cells through farm exposure during immune maturation in childhood", **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 604–615, 2017.

SCHROEDER, P. C., ILLI, S., CASACA, V. I., LLUIS, A., BOECK, A., RODUIT, C., DEPNER, M., FREI, R., GENUNEIT, J., PFEFFERLE, P. I. "A switch in regulatory T cells through farm exposure during immune maturation in childhood", **Allergy**, v. 72, n. 4, p. 604–615, 2017.

SCHWARTZ, C., FALLON, P. G. "Schistosoma “eggs-iting” the host: granuloma formation and egg excretion", **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 2492, 2018.

SCHWARTZ, C., HAMS, E., FALLON, P. G. "Helminth modulation of lung inflammation", **Trends in parasitology**, v. 34, n. 5, p. 388–403, 2018.

SCHWARTZ, C., OESER, K., DA COSTA, C. P., *et al.* "T Cell–Derived IL-4/IL-13 Protects Mice against Fatal *Schistosoma mansoni* Infection Independently of Basophils", **The Journal of Immunology**, v. 193, n. 7, p. 3590–3599, 2014.

SENGUPTA, M. E., HELLSTRÖM, M., KARIUKI, H. C., *et al.* "Environmental DNA for improved detection and environmental surveillance of schistosomiasis", **National Acad Sciences**, 2019.

SHAHAT, S. A., EL-DHSHAN, M. A., AISSA, S. S., *et al.* "Flowcytometric analysis of T-lymphocytes and serum tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) levels in *Schistosoma mansoni* patients.", **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 37, n. 3, p. 1065–1074, 2007.

SILVA, A., JESUS, A. R. de, SANTANA, L. B., *et al.* "Clinical and Immunologic Evaluation of 31 Patients with Acute *Schistosomiasis mansoni*", 2002.

SILVA-SOUZA, N., VASCONCELOS, S. D. "Histopathology of *Holochilus brasiliensis* (Rodentia: Cricetidae) infected with *Schistosoma mansoni* (Schistosomatida: Schistosomatidae)", **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 34, n. 2, 2005.



- SIMÕES, T. C., SENA, R., MEIRA, K. C. "The influence of the age-period-cohort effects on the temporal trend mortality from schistosomiasis in Brazil from 1980 to 2014", **PLoS ONE**, v. 15, n. 4, 1 abr. 2020.
- SIMOONGA, C., UTZINGER, J., BROOKER, S., *et al.* "Remote sensing, geographical information system and spatial analysis for schistosomiasis epidemiology and ecology in Africa", **cambridge.org**, 2009.
- SITCHARUNGSU, R., SIRIVICHAYAKUL, C. "Allergic diseases and helminth infections", **Pathogens and global health**, v. 107, n. 3, p. 110–115, 2013.
- SMITS, H. H., EVERTS, B., HARTGERS, F. C., *et al.* "Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes", **Current allergy and asthma reports**, v. 10, n. 1, p. 3–12, 2010.
- SMITS, H. H., EVERTS, B., HARTGERS, F. C., *et al.* "Chronic helminth infections protect against allergic diseases by active regulatory processes", **Current allergy and asthma reports**, v. 10, n. 1, p. 3–12, 2010.
- SMITS, H. H., YAZDANBAKHSI, M. "Chronic helminth infections modulate allergen-specific immune responses: Protection against development of allergic disorders?", **Annals of medicine**, v. 39, n. 6, p. 428–439, 2007a.
- SOUSA-PEREIRA, S. R., TEIXEIRA, A. L., SILVA, L. C. S., *et al.* "Serum and cerebral spinal fluid levels of chemokines and Th2 cytokines in *Schistosoma mansoni* myeloradiculopathy", **Parasite immunology**, v. 28, n. 9, p. 473–478, 2006.
- SOUZA, P. R. S., SOUZA, A. L. S., NEGRAO-CORREA, D., *et al.* "The role of chemokines in controlling granulomatous inflammation in *Schistosoma mansoni* infection", **Acta tropica**, v. 108, n. 2–3, p. 135–138, 2008.
- STADECKER, M. J., ASAHI, H., FINGER, E., *et al.* "The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis", **Immunological reviews**, v. 201, n. 1, p. 168–179, 2004.
- STEIN, M., GREENBERG, Z., BOAZ, M., *et al.* "The role of helminth infection and environment in the development of allergy: a prospective study of newly-arrived Ethiopian immigrants in Israel", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004208, 2016.
- STEINEGGER, L., REGENASS, S., BACHMANN, L. M., *et al.* "Atopy and related clinical symptoms among Swiss medical students from 2007 to 2015", **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 14, n. 1, p. 1–6, 2018.
- STEINFELDER, S., ANDERSEN, J. F., CANNONS, J. L., *et al.* "The major component in *schistosoma* eggs responsible for conditioning dendritic cells for Th2 polarization is a T2 ribonuclease (omega-1)", **Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 8, p. 1681–1690, 2009.
- STENSGAARD, A.-S., VOUNATSOU, P., SENGUPTA, M. E., *et al.* "Schistosomes, snails and climate change: current trends and future expectations", **Acta tropica**, v. 190, p. 257–268, 2019.

STOTHARD, J. R., CAMPBELL, S. J., OSEI-ATWENEBOANA, M. Y., *et al.* "Towards interruption of schistosomiasis transmission in sub-Saharan Africa: Developing an appropriate environmental surveillance framework to guide and to support "end game" interventions", **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, 14 jan. 2017.

STRACHAN, D. P. "Hay fever, hygiene, and household size.", **BMJ: British Medical Journal**, v. 299, n. 6710, p. 1259, 1989.

SUCHIVA, P., TAKAI, T., IIDA, H., *et al.* "Protease allergen and tape-stripping cooperatively promote epidermal barrier dysfunction and proinflammatory gene expression in mice", **Journal of Dermatological Science**, v. 86, n. 2, p. e14, 2017.

SUH, D. I., KOH, Y. Y. "Relationship between atopy and bronchial hyperresponsiveness", **Allergy, asthma & immunology research**, v. 5, n. 4, p. 181–188, 2013.

SUMMERS, R. W., ELLIOTT, D. E., URBAN JR, J. F., *et al.* "*Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial", **Gastroenterology**, v. 128, n. 4, p. 825–832, 2005.

SUPALI, T., VERWEIJ, J. J., WIRIA, A. E., *et al.* "Polyparasitism and its impact on the immune system", **International journal for parasitology**, v. 40, n. 10, p. 1171–1176, 2010.

TALLO, V., CARABIN, H., ... P. A.-B. of the W., *et al.* "Is mass treatment the appropriate schistosomiasis elimination strategy?", **SciELO Public Health**, 2008.

TANG, P., MOHAN, S., SIGLER, L., *et al.* "Allergic fungal sinusitis associated with *Trichoderma longibrachiatum*", **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 11, p. 5333–5336, 2003.

TAYLOR, J. J., MOHRS, M., PEARCE, E. J. "Regulatory T Cell Responses Develop in Parallel to Th Responses and Control the Magnitude and Phenotype of the Th Effector Populatio", **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 10, p. 5839–5847, 2006.

TIGGELMAN, A., BOERS, W., LINTHORST, C., *et al.* "Interleukin-6 production by human liver (myo) fibroblasts in culture. Evidence for a regulatory role of LPS, IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ ", **Elsevier**, 1995.

TILLI, M., BOTTA, A., MANTELLA, A., *et al.* "Community-based seroprevalence survey of schistosomiasis and strongyloidiasis by means of Dried Blood Spot testing on Sub-Saharan migrants resettled in Italy", **The new Microbiologica**, v. 44, n. 1, 2020.

TOOR, J., ROLLINSON, D., TURNER, H. C., *et al.* "Achieving elimination as a public health problem for *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*: when is community-wide treatment required?", **The Journal of infectious diseases**, v. 221, n. Supplement\_5, p. S525–S530, 2020.

VAN DEN BIGGELAAR, A. H. J., VAN REE, R., RODRIGUES, L. C., *et al.* "Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10", **The Lancet**, v. 356, n. 9243, p. 1723–1727, 2000.

VAN DER VLUGT, L. E. P. M., ZINSOU, J. F., OZIR-FAZALALIKHAN, A., *et al.* "IL-10-producing CD1dhi regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-

10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines", **Regulatory B cells in allergic asthma and schistosomiasis: controlling inflammation**, v. 210, n. 8, p. 95, 2015.

VAN DER VLUGT, L. E. P. M., ZINSOU, J. F., OZIR-FAZALALIKHAN, A., *et al.* "Interleukin 10 (IL-10)-producing CD1dhi regulatory B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines", **The Journal of infectious diseases**, v. 210, n. 8, p. 1207–1216, 2014.

VON HERTZEN, L., HANSKI, I., HAAHTELA, T. "Natural immunity: biodiversity loss and inflammatory diseases are two global megatrends that might be related", **EMBO reports**, v. 12, n. 11, p. 1089–1093, 2011.

VON MUTIUS, E, SCHWARTZ, J., NEAS, L. M., *et al.* "Relation of body mass index to asthma and atopy in children: the National Health and Nutrition Examination Study III", **Thorax**, v. 56, n. 11, p. 835–838, 2001.

VON MUTIUS, Erika. "Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma", **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 109, n. 6, p. S525–S532, 2002.

VOS, T., FLAXMAN, A. D., NAGHAVI, M., *et al.* "Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010", **The lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2163–2196, 2012.

WAHYUNI, S., SARTONO, E., SUPALI, T., *et al.* "Clustering of allergic outcomes within families and households in areas endemic for helminth infections", **International archives of allergy and immunology**, v. 136, n. 4, p. 356–364, 2005.

WALZ, Y., WEGMANN, M., DECH, S., VOUNATSOU, P., *et al.* "Modeling and validation of environmental suitability for schistosomiasis transmission using remote sensing", **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 11, p. e0004217, 2015.

WALZ, Y., WEGMANN, M., DECH, S., RASO, G., *et al.* "Risk profiling of schistosomiasis using remote sensing: Approaches, challenges and outlook", **Parasites and Vectors**, v. 8, n. 1, 17 mar. 2015.

WANG, Y. H., LIU, Y. J. "Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses", **Clinical and Experimental Allergy**, v. 39, n. 6, p. 798–806, jun. 2009.

WEBB, E. L., NAMPIJJA, M., KAWEEESA, J., *et al.* "Helminths are positively associated with atopy and wheeze in Ugandan fishing communities: results from a cross-sectional survey", **Allergy**, v. 71, n. 8, p. 1156–1169, 2016.

WEITNAUER, M., MIJOŠEK, V., DALPKE, A. H. "Control of local immunity by airway epithelial cells", **Mucosal immunology**, v. 9, n. 2, p. 287–298, 2016.

WIRIA, A. E., HAMID, F., WAMMES, L. J., *et al.* "The effect of three-monthly albendazole treatment on malarial parasitemia and allergy: a household-based cluster-randomized, double-blind, placebo-controlled trial", **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e57899, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Schistosomiasis: progress report 2001-2011, strategic plan 2012-2020. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: number of people treated in 2015. **Weekly epidemiological record**, v. 91, n. 49/50, p. 585-595, 2016.

WOHLLEBEN, G., TRUJILLO, C., MÜLLER, J., *et al.* "Helminth infection modulates the development of allergen-induced airway inflammation", **International immunology**, v. 16, n. 4, p. 585–596, 2004.

YAZDANBAKHSI, M., KREMSNER, P. G., VAN REE, R. "Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis", **Science**, v. 296, n. 5567, p. 490–494, 2002.

ZAALOUK, T. K., ABO-SHEISHAA, G. A., SHALASH, I. R. "Regulation of Liver Fibrosis during Murine Schistosomiasis Mansoni", **The Egyptian Journal of Hospital Medicine**, v. 81, n. 1, p. 1275–1280, 2020.

ZAISS, M. M., RAPIN, A., LEBON, L., *et al.* "The intestinal microbiota contributes to the ability of helminths to modulate allergic inflammation", **Immunity**, v. 43, n. 5, p. 998–1010, 2015.

ZHANG, Y., KOUKOUNARI, A., KABATEREINE, N., *et al.* "Parasitological impact of 2-year preventive chemotherapy on schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Uganda", **BMC Medicine**, v. 5, 3 set. 2007.

## 11. ANEXOS

### ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO Participantes menores de 7 anos Convite para participar

Seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade, cujo nome é \_\_\_\_\_ está convidado (a) para participar, voluntariamente do Projeto “*Schistosoma mansoni* e geohelmintos – Aprimoramento de técnicas diagnósticas para levantamento de prevalência e controle de cura, monitoramento da transmissão e identificação de marcadores de morbidade em áreas com cenários eco-epidemiológicos distintos.”

Leia e/ou ouça atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento.

#### Informações sobre o Estudo

O projeto em andamento será realizado nos Municípios de Januária e Montes Claros, Minas Gerais onde será conduzido por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Instituto René Rachou, da Fiocruz Minas Gerais e nos Municípios de Turiaçu no Maranhão e Primavera no Pará, onde o estudo será conduzido por pesquisadores do Instituto Evandro Chagas, Ministério de Saúde. A pesquisa será conduzida em cumprimento total das exigências contidas na Resolução CNS Nº 466/12, sobre pesquisa com seres humanos. O objetivo deste estudo é aperfeiçoar técnicas de exames de fezes, de urina e sorológicas para o diagnóstico e controle da esquistossomose. Também esperamos verificar se outras verminoses, doenças alérgicas ou outras alterações podem afetar a gravidade da esquistossomose. É importante lembrar que a Esquistossomose (também conhecida como xistose ou barriga d’água) é uma doença que se adquire no contato com águas que contém caramujos infectados. As pessoas que são diagnosticadas podem ser tratadas e curadas, mas o diagnóstico das pessoas com baixa carga parasitária é difícil e sem o tratamento alguns casos xistose podem produzir alterações no fígado e sangramentos (no vômito e nas fezes).

Ao concordar com a participação de seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade você deverá responder a um questionário confidencial com perguntas relacionadas a situação de moradia, características comportamentais e pessoais que estão associadas a transmissão das parasitoses em estudo. Você também autoriza a coleta de uma amostra de fezes, urina e sangue que serão utilizados para detectar ovos ou produtos do verme (como DNA) ou induzidos por ele (anticorpos) que permitam

confirmar a presença da esquistossomose. Nas amostras de fezes também iremos investigar a presença de outros vermes e no sangue de outras doenças que possam interferir na gravidade da esquistossomose.

### **Riscos e Benefícios**

Os benefícios provenientes da participação do seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade consistem na geração de novos conhecimentos para embasar as ações de prevenção e controle da esquistossomose no município. Os participantes que apresentarem xistose serão tratados gratuitamente com Praziquantel ou oxamniquine, ou com Albendazol ou Mebendazol em caso de outras verminoses. Os participantes também receberão noções de educação sanitária com o objetivo de evitar a transmissão das verminoses.

O risco para o seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade que porventura participe da pesquisa são mínimos. Existe o desconforto da picada da agulha no momento da retirada do sangue. Entretanto, a coleta será realizada por profissionais especializados em local adequado e utilizando material descartável, evitando problemas de contaminação. Os efeitos colaterais dos medicamentos são poucos e largamente compensados pelos benefícios do tratamento e da cura das verminoses está no momento da coleta de sangue.

### **Confidencialidade:**

Toda informação pessoal obtida nesta pesquisa é considerada confidencial e a identificação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade será mantida como informação sigilosa. As amostras de fezes, urina e sangue de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade serão guardados apenas com um número, sem o nome. Os relatórios e resultados deste estudo serão publicados na forma de textos, tabelas, gráficos e figuras, sem nenhuma forma de identificação individual.

### **Informações adicionais**

Você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade também podem e devem fazer todas as perguntas que julgar necessárias, assim como recorrer a seu médico ou agente de saúde para maiores informações, se assim entender.

A participação é totalmente voluntária e você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderão se recusar a participar do estudo sem qualquer prejuízo pessoal para ambos.

Você e seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade têm a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração e participação nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.

A desistência não causará nenhum prejuízo à saúde ou bem-estar físico do seu filho ou menor sob sua responsabilidade. Não virá interferir no atendimento e na assistência a ser prestada em caso de necessidade.

### Consentimento e Assentimento:

Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Fui informado que assinarei duas vias do consentimento e que uma delas ficará em meu poder. Concordo com a minha participação voluntária nesta pesquisa.

Nome do Responsável: _____	<b>Impressão Digital (opcional)</b>
Assinatura do Responsável: _____	
Assinatura do Entrevistador: _____	

Data: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_ .

### ENDEREÇO E TELEFONE DOS PESQUISADORES

Para informações adicionais sobre este estudo, você poderá se comunicar com os pesquisadores responsáveis na sua região:

Dr. Paulo Marcos Zech Coelho – Coordenador Geral da Pesquisa

Centro de Pesquisa René Rachou – Fiocruz

Av. Augusto de Lima 1715, CEP: 30190-002, Barro Preto, Belo Horizonte-MG

Tel. (31)3349-7740; E-mail: [coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br](mailto:coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br)

Dr. Stefan Michael Geiger

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia/ICB, Bloco L4, Sala 168;

Avenida Antônio Carlos 6627, CEP 31270-901, Pampulha, Belo Horizonte-MG

Tel.: (31)3409-2869 ; E-mail: [stefan.geiger76@gmail.com](mailto:stefan.geiger76@gmail.com)

Dr. Martin Johannes Enk

Instituto Evandro Chagas, Ministério de Saúde, Laboratório de Esquistossomose, Rodovia BR 316 – km 07, SNº; Bairro Levilândia, CEP 67030-000, Ananindeua-PA

Tel.: (91)3214-2149 ; E-mail: [martinenk@iec.pa.gov.br](mailto:martinenk@iec.pa.gov.br)

Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da CPqRR (Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ). Endereço: Av. Augusto de Lima, nº 1715 – Bairro Barro Preto/ Belo Horizonte – MG. Cep: 30190-002. Tel.: (31) 3349 7825

Email: [cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br](mailto:cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br)

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Participantes menores de 18 anos

### Convite para participar

Seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade, cujo nome é \_\_\_\_\_ está convidado(a) para participar, voluntariamente do Projeto “*Schistosoma mansoni* e geohelmintos – Aprimoramento de técnicas diagnósticas para levantamento de prevalência e controle de cura, monitoramento da transmissão e identificação de marcadores de morbidade em áreas com cenários eco-epidemiológicos distintos.”

Leiam e/ou ouçam atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento ou assentimento.

### Informações sobre o Estudo

O projeto em andamento será realizado nos Municípios de Januária e Montes Claros, Minas Gerais onde será conduzido por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Instituto René Rachou, da Fiocruz Minas Gerais e nos Municípios de Turiaçu no Maranhão e Primavera no Pará, onde o estudo será conduzido por pesquisadores do Instituto Evandro Chagas, Ministério de Saúde. A pesquisa será conduzida em cumprimento total das exigências contidas na Resolução CNS Nº 466/12, sobre pesquisa com seres humanos. O objetivo deste estudo é aperfeiçoar técnicas de exames de fezes, de urina e sorológicas para o diagnóstico e controle da esquistossomose. Também esperamos verificar se outras verminoses, doenças alérgicas ou outras alterações podem afetar a gravidade da esquistossomose. É importante lembrar que a Esquistossomose (também conhecida como xistose ou barriga d’água) é uma doença que se adquire no contato com águas que contém caramujos infectados. As pessoas que são diagnosticadas podem ser tratadas e curadas, mas o diagnóstico das pessoas com baixa carga parasitária é difícil e sem o tratamento alguns casos xistose podem produzir alterações no fígado e sangramentos (no vômito e nas fezes).

Ao concordar com a participação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade você deverá responder a um questionário confidencial com perguntas relacionadas a situação de moradia, características comportamentais e pessoais que estão associadas a transmissão das parasitoses em estudo. Você também autoriza a coleta de uma amostra de fezes, urina e sangue que serão utilizados para detectar ovos ou produtos do verme (como DNA) ou induzidos por ele (anticorpos) que permitam confirmar a presença da esquistossomose. Nas amostras de fezes também iremos investigar a presença



de outros vermes e no sangue de outras doenças que possam interferir na gravidade da esquistossomose.

### **Riscos e Benefícios**

Os benefícios provenientes da participação do seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade consistem na geração de novos conhecimentos para embasar as ações de prevenção e controle da esquistossomose no município. Os participantes que apresentarem xistose serão tratados gratuitamente com Praziquantel ou oxamniquine, ou com Albendazol ou Mebendazol em caso de outras verminoses. Os participantes também receberão noções de educação sanitária com o objetivo de evitar a transmissão das verminoses.

O risco para o seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade que porventura participe da pesquisa são mínimos. Existe o desconforto da picada da agulha no momento da retirada do sangue. Entretanto, a coleta será realizada por profissionais especializados em local adequado e utilizando material descartável, evitando problemas de contaminação. Os efeitos colaterais dos medicamentos são poucos e largamente compensados pelos benefícios do tratamento e da cura das verminoses está no momento da coleta de sangue.

### **Confidencialidade:**

Toda informação pessoal obtida nesta pesquisa é considerada confidencial e a identificação de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade será mantida como informação sigilosa. As amostras de fezes, urina e sangue de seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade serão guardados apenas com um número, sem o nome. Os relatórios e resultados deste estudo serão publicados na forma de textos, tabelas, gráficos e figuras, sem nenhuma forma de identificação individual.

### **Informações adicionais**

Você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade também podem e devem fazer todas as perguntas que julgar necessárias, assim como recorrer a seu médico ou agente de saúde para maiores informações, se assim entender.

A participação é totalmente voluntária e você e seu filho(a) ou menor sob sua responsabilidade poderão se recusar a participar do estudo sem qualquer prejuízo pessoal para ambos.

Você e seu filho (a) ou menor sob sua responsabilidade têm a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração e participação nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.

A desistência não causará nenhum prejuízo à saúde ou bem estar físico do seu filho ou menor sob sua responsabilidade. Não virá interferir no atendimento e na assistência a ser prestada em caso de necessidade.

### Consentimento e Assentimento:

Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Fui informado que assinarei duas vias do consentimento e que uma delas ficará em meu poder. Concordo com a minha participação voluntária nesta pesquisa.

Nome do Responsável: _____	<b>Impressão Digital (opcional)</b>
Assinatura do Responsável: _____	
Assinatura do Entrevistador: _____	

Data: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_ .

### ENDEREÇO E TELEFONE DOS PESQUISADORES

Para informações adicionais sobre este estudo, você poderá se comunicar com os pesquisadores responsáveis na sua região:

Dr. Paulo Marcos Zech Coelho – Coordenador Geral da Pesquisa  
Centro de Pesquisa René Rachou – Fiocruz  
Av. Augusto de Lima 1715, CEP: 30190-002, Barro Preto, Belo Horizonte-MG  
Tel. (31)3349-7740; E-mail: [coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br](mailto:coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br)

Dr. Stefan Michael Geiger  
Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia/ICB, Bloco L4, Sala 168;  
Avenida Antônio Carlos 6627, CEP 31270-901, Pampulha, Belo Horizonte-MG  
Tel.: (31)3409-2869 ; E-mail: [stefan.geiger76@gmail.com](mailto:stefan.geiger76@gmail.com)

Dr. Martin Johannes Enk  
Instituto Evandro Chagas, Ministério de Saúde, Laboratório de Esquistossomose, Rodovia BR 316 –  
km 07, SNº; Bairro Levilândia, CEP 67030-000, Ananindeua-PA  
Tel.: (91)3214-2149 ; E-mail: [martinenk@iec.pa.gov.br](mailto:martinenk@iec.pa.gov.br)

Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da CPqRR (Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ). Endereço: Av. Augusto de Lima, nº 1715 – Bairro Barro Preto/ Belo Horizonte – MG. Cep: 30190-002. Tel.: (31) 3349 7825  
Email: [cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br](mailto:cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br)

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**Participantes maiores de 18 anos**  
**Convite para participar**

Você, \_\_\_\_\_ está convidado(a) para participar, voluntariamente do Projeto “*Schistosoma mansoni* e geohelmintos – Aprimoramento de técnicas diagnósticas para levantamento de prevalência e controle de cura, monitoramento da transmissão e identificação de marcadores de morbidade em áreas com cenários eco-epidemiológicos distintos.”

Leia e/ou ouça atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento.

**Informações sobre o Estudo**

O projeto em andamento será realizado no Município de Januária e Montes Claros, Minas Gerais onde será conduzido por pesquisadores da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e do Instituto René Rachou, da Fiocruz Minas Gerais e nos Municípios de Turiaçu no Maranhão e Primavera no Pará, onde o estudo será conduzido por pesquisadores do Instituto Evandro Chagas, Ministério de Saúde. A pesquisa será conduzida em cumprimento total das exigências contidas na Resolução CNS Nº 466/12, sobre pesquisa com seres humanos. O objetivo deste estudo é aperfeiçoar técnicas de exames de fezes, de urina e sorológicas para o diagnóstico e controle da esquistossomose. Também esperamos verificar se outras verminoses, doenças alérgicas ou outras alterações podem afetar a gravidade da esquistossomose. É importante lembrar que a Esquistossomose (também conhecida como xistose ou barriga d’água) é uma doença que se adquire no contato com águas que contém caramujos infectados. As pessoas que são diagnosticadas podem ser tratadas e curadas, mas o diagnóstico das pessoas com baixa carga parasitária é difícil e sem o tratamento alguns casos da xistose podem produzir alterações no fígado e sangramentos (no vômito e nas fezes).

Ao concordar com a participação você deverá responder a um questionário confidencial com perguntas relacionadas a situação de moradia, características comportamentais e pessoais que estão associadas a transmissão das parasitoses em estudo. Você também autoriza a coleta de uma amostra de fezes, urina e sangue que serão utilizados para detectar ovos ou produtos do verme (como DNA) ou induzidos por ele (anticorpos) que permitam confirmar a presença da esquistossomose. Nas amostras de fezes também iremos investigar a presença de outros vermes e no sangue de outras doenças que possam interferir na gravidade da esquistossomose.

**Riscos e Benefícios**

Os benefícios provenientes da participação consistem na geração de novos conhecimentos para embasar as ações de prevenção e controle da esquistossomose no município. Os participantes que apresentarem xistose serão tratados gratuitamente com Praziquantel ou oxamniquine, ou com Albendazol ou Mebendazol em caso de outras verminoses. Os participantes também receberão noções de educação sanitária com o objetivo de evitar a transmissão das verminoses.

O risco para você é mínimo. Existe o desconforto da picada da agulha no momento da retirada do sangue. Entretanto, a coleta será realizada por profissionais especializados em local adequado e utilizando material descartável, evitando problemas de contaminação. Os efeitos colaterais dos medicamentos são poucos e largamente compensados pelos benefícios do tratamento e da cura das verminoses está no momento da coleta de sangue.

**Confidencialidade:**

Toda informação pessoal obtida nesta pesquisa é considerada confidencial e sua será mantida como informação sigilosa. As amostras de fezes, urina e sangue serão guardadas apenas com um número, sem o nome. Os relatórios e resultados deste estudo serão publicados na forma de textos, tabelas, gráficos e figuras, sem nenhuma forma de identificação individual.

**Informações adicionais**

Você também pode e deve fazer todas as perguntas que julgar necessárias, assim como recorrer a seu médico ou agente de saúde para maiores informações, se assim entender.

A participação é totalmente voluntária e você poderá se recusar a participar do estudo sem qualquer prejuízo pessoal.

Você tem a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração e participação nesta pesquisa no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação.

A desistência não causará nenhum prejuízo à sua saúde ou bem estar físico. Não virá interferir no atendimento e na assistência a ser prestada em caso de necessidade.

**Consentimento:**

Declaro que li e entendi as informações relativas a este estudo. Fui informado que assinarei duas vias do consentimento e que uma delas ficará em meu poder. Concordo com a minha participação voluntária nesta pesquisa.

Nome do Responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do Responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do Entrevistador: \_\_\_\_\_

<b>Impressão Digital (opcional)</b>
---

Data: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_ .

#### ENDEREÇO E TELEFONE DOS PESQUISADORES

Para informações adicionais sobre este estudo, você poderá se comunicar com os pesquisadores responsáveis na sua região:

Dr. Paulo Marcos Zech Coelho – Coordenador Geral da Pesquisa

Centro de Pesquisa René Rachou – Fiocruz

Av. Augusto de Lima 1715, CEP: 30190-002, Barro Preto, Belo Horizonte-MG

Tel. (31)3349-7740; E-mail: [coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br](mailto:coelhohpm@cpqrr.fiocruz.br)

Dr. Stefan Michael Geiger

Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia/ICB, Bloco L4, Sala 168;

Avenida Antônio Carlos 6627, CEP 31270-901, Pampulha, Belo Horizonte-MG

Tel.: (31)3409-2869 ; E-mail: [stefan.geiger76@gmail.com](mailto:stefan.geiger76@gmail.com)

Dr. Martin Johannes Enk

Instituto Evandro Chagas, Ministério de Saúde, Laboratório de Esquistossomose, Rodovia BR 316 – km 07, SNº; Bairro Levilândia, CEP 67030-000, Ananindeua-PA

Tel.: (91)3214-2149 ; E-mail: [martinenk@iec.pa.gov.br](mailto:martinenk@iec.pa.gov.br)

Para informações éticas do estudo, você poderá contatar o Comitê de Ética da CPqRR (Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ). Endereço: Av. Augusto de Lima, nº 1715 – Bairro Barro Preto/ Belo Horizonte – MG. Cep: 30190-002. Tel.: (31) 3349 7825

Email: [cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br](mailto:cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br)

## ANEXO 2 – Parecer Consubstanciado do CEP

CENTRO DE PESQUISAS  
RENÉ RACHOU/FUNDAÇÃO  
OSWALDO CRUZ/ CPQRR/



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Novas técnicas de diagnóstico para Schistosoma mansoni e geohelmintos.

**Pesquisador:** Paulo Marcos Zech Coelho

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 21824513.9.0000.5091

**Instituição Proponente:** Centro de Pesquisas René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz/ CPQRR/

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 518.888

**Data da Relatoria:** 27/01/2014

#### Apresentação do Projeto:

Projeto: Schistosoma mansoni e geohelmintos e Aprimoramento de técnicas diagnósticas para levantamento de prevalência e controle de cura, monitoramento da transmissão e identificação de marcadores de morbidade em áreas com cenários eco-epidemiológicos distintos, coordenado por Dr. Paulo Marcos Zech Coelho do CPQRR e equipe de pesquisadores de outras quatro instituições. Recursos do DCIT totalizando R\$650.000,00

#### Objetivo da Pesquisa:

Meta: Realizar estudos parasitológicos, epidemiológicos e imunológicos em áreas de média a baixa endemicidade para a esquistossomose mansoni, visando obter uma visão real e atual dos aspectos de transmissão e morbidade associados à infecção por Schistosoma mansoni e geohelmintos que permita a proposição de estratégias de controle e tratamento compatível com realidade da doença e com a atuação do sistema de saúde.

#### Objetivos específicos:

1. Levantamento da prevalência da infecção por S. mansoni e geohelmintos em áreas da Amazônia, baixada Maranhense e Norte de Minas Gerais, onde as características de transmissão da infecção humana por helmintos são bastante diferenciadas.
2. Comparação da sensibilidade do método de Kato-Katz com os novos testes diagnósticos (Helmintex, gradiente, CCA modificado e PCR) para monitoramento da transmissão e cura após

**Endereço:** Avenida Augusto de Lima, 1715

**Bairro:** Barro Preto

**CEP:** 30.190-002

**UF:** MG

**Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3349-7825

**Fax:** (31)3349-7825

**E-mail:** cepsh-cpqr@cpqr.fiocruz.br



CENTRO DE PESQUISAS  
RENÉ RACHOU/FUNDAÇÃO  
OSWALDO CRUZ/ CPQRR/



Continuação do Parecer: 518.888

tratamento.

3. Tratamento dos indivíduos infectados e monitoramento da eficácia do controle quimioterápico de helmintoses na transmissão e na morbidade (reversão do quadro clínico)
4. Levantamento malacológico e monitoramento de taxas de infecção natural de *Biomphalaria* antes e após interferência
5. Padronização de metodologia molecular baseada no LAMP para detecção da infecção por *S. mansoni* em moluscos do gênero *Biomphalaria*.
6. Avaliação de marcadores de morbidade (imagem e imunológicos) da esquistossomose mansoni, antes do primeiro tratamento e durante o seguimento.
7. Analisar o possível efeito de co-morbidades (co-infecção por geohelmintos, status nutricional e doenças inflamatórias crônicas) na morbidade de esquistossomose mansoni.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:** Os riscos envolvidos nesse projeto referem-se à venipuntura. Os voluntários serão informados dos possíveis riscos e terão atendimento médico especializado garantido. Venipuntura - A venipuntura é um procedimento muito seguro e realizado de rotina em qualquer centro de saúde de atenção básica. Alguns eventos adversos relacionados com a venipuntura podem ser: hematomas no local da introdução da agulha, uma complicação atinge cerca de 3% das pessoas submetidas a tal procedimento, e que resolve em até duas semanas; tonteira ou desmaio, devido a reação vasovagal, que atinge cerca de 1% das pessoas submetidas à venipuntura; síncope, que ocorre 1 vez a cada 10.000 procedimentos; e punção arterial que é um evento raríssimo (1:50.000).

**Benefícios:**

Todos os participantes do estudo ou seus responsáveis legais serão devidamente informados do estudo e solicitados a assinar um termo de consentimento livre e esclarecido antes da coleta de dados. Os voluntários serão informados que não obterão benefícios diretos pela participação no projeto. Entretanto, todos os voluntários receberão atenção médica personalizada oferecida pelo projeto sem ônus para o participante, incluindo exames laboratoriais de rotina. Todos os indivíduos com infecção por *S. mansoni* ou geohelmintos confirmadas serão encaminhados para o serviço de saúde para tratamento específico, indivíduos com outras doenças que possam ser identificadas também serão encaminhados para tratamento especializado.

**Endereço:** Avenida Augusto de Lima, 1715

**Bairro:** Barro Preto

**CEP:** 30.190-002

**UF:** MG

**Município:** BELO HORIZONTE

**Telefone:** (31)3349-7825

**Fax:** (31)3349-7825

**E-mail:** cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br



CENTRO DE PESQUISAS  
RENÉ RACHOU/FUNDAÇÃO  
OSWALDO CRUZ/ CPQRR/



Continuação do Parecer: 518.888

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa bem fundamentada do ponto de vista científico, com objetivos relevantes. A coordenação e a equipe têm qualificação e experiência importantes, assim como as competências das instituições participantes e o orçamento aprovado, são garantias suficientes de que a pesquisa será conduzida como planejada e levada à termo.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Não se aplica.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Todas as recomendações sugeridas no parecer emitido em outubro/2013 foram adequadamente atendidas. Não há novas inadequações e pendências.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Colocado em discussão o parecer do relator, o Comitê de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos do Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ Minas, decidiu pela Aprovação deste projeto.

BELO HORIZONTE, 31 de Janeiro de 2014

---

**Assinador por:**  
**Naftale Katz**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida Augusto de Lima, 1715  
**Bairro:** Barro Preto **CEP:** 30.190-002  
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE  
**Telefone:** (31)3349-7825 **Fax:** (31)3349-7825 **E-mail:** cepsh-cpqrr@cpqrr.fiocruz.br



### ANEXO 3 – Questionário familiar

#### ESTUDO SOBRE PARASITOSES INTESTINAIS E ESQUISTOSSOMOSE - DECIT

<b>IDENTIFICAÇÃO DA FAMÍLIA E DOMICÍLIO</b>	
<b>1. CÓDIGO DA COMUNIDADE</b> <input type="checkbox"/> 1. Januária - MG <input type="checkbox"/> 2. Montes Claro - MG <input type="checkbox"/> 3. Primavera - PA <input type="checkbox"/> 4. Turiaçu – MA	<b>CodCom</b>
<b>2. CÓDIGO DO DOMICÍLIO</b>	<b>CodDom</b>
<b>3. DATA DA ENTREVISTA</b> ____/____/____	<b>DatEnt</b>
<b>4. ENTREVISTADOR</b>	
<b>5. CÓDIGO DO RESULTADO DA ENTREVISTA</b> <input type="checkbox"/> 1. Completa <input type="checkbox"/> 2. Incompleta <input type="checkbox"/> 3. Adiada <input type="checkbox"/> 4. Recusa total <input type="checkbox"/> 77. Outra (especificar) _____	<b>CodEnt</b>
<b>ASSINATURA DO ENTREVISTADOR</b>	
Ass.: _____	

**RESPOSTAS PADRONIZADAS NESTE QUESTIONÁRIO**

**77 = NÃO QUIS RESPONDER OU MOSTRAR**

**88 = NÃO SE APLICA**

**99 = NÃO SABE/NÃO LEMBRA**

**QUESTIONÁRIO 1**

**CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA, DOMICÍLIO E AMBIENTE**

1. Quantas pessoas moram na sua casa? _____	PMORA
2. Em sua opinião, quem você considera ser o chefe da família? ( ) 1- Você ( ) 2 Mãe ( ) 3 Pai ( ) 4 Tio(a) ( ) 5 Avó/Avô ( ) 6 Outro	
3. Quantas pessoas na família receberam, NO ÚLTIMO MÊS, alguma remuneração por seu trabalho, aposentadoria, “bicos”, bolsa família ou bolsa escola (exceto salário desemprego)? _____ ( ) 77- Nqr ( ) 88-Nsa ( ) 99–Nsabe/Nlembra	QTREC
4. No mês passado, qual foi a renda total da família? R\$ _____ reais ( ) 1 - de 0 a 100 ( ) 2 - de 101 a 200 ( ) 3 - de 201a 300 ( ) 4 - de 301 a 400 ( ) 5 - de 401 a 500 ( ) 6 - de 501 a 1.000 ( ) 7 - 1.001 a 2.000 ( ) 8 - acima de 2.000 ( ) 77-nqr ( ) 88-nsa ( ) 99-nsabe/nlembra	FxRenTot
Na família alguém recebe:	
5. Bolsa família ou Bolsa escola ou Bolsa alimentação	

( )1-Sim ( )2-Não ( )77-nqr ( )99-nsabe/nlembra	
<b>6. Recebe outros auxílios de programas do governo?</b> ( )1-Sim ( )2-Não Se <b>Sim</b> Qual: _____	
<b>CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DO DOMICÍLIO</b>	
<b>7. Quantos cômodos têm a sua casa?</b> _____ 77- Nqr ( ) 88-Nsa ( ) 99-Nsabe/Nlembra	
<b>8. Quantas pessoas moram na sua casa?</b> _____ ( ) 77- Nqr ( ) 88-Nsa ( ) 99-Nsabe/Nlembra _____	
<b>9. Quantos destes cômodos são utilizados como dormitório?</b> _____ ( ) 77- Nqr ( ) 88-Nsa ( ) 99-Nsabe/Nlembra	
<b>10. Na sua casa tem energia elétrica?</b> ( )1-Sim ( )2-Não ( )77-nqr ( )99-nsabe/nlembra	
<b>11. A sua casa tem privada?</b> ( )1-Sim, dentro de casa ( )2-Sim, fora de casa ( )3-Não ( )77-nqr ( )99-nsabe/nlembra	
<b>12. Qual é o destino do esgotamento da privada?</b> ( )1-Rede publica ( )2-Fossa séptica ( )3-Fossa rudimentar ( )4-Vala/Céu aberto ( )5- curso d'água ( )77- nqr ( )88-nsa ( )99-nsabe/nlembra	
<b>13. Qual é o destino dado ao lixo de sua casa?</b> ( )1-Coleta pública ( )2-Enterra ( )3- Queima ( )4-Joga no mato(terreno baldio) ( )5- Joga no lixão ( )6- Joga no quintal ( )7- Reciclagem	

( )77-nqr ( )8- outro ( )99-nsabe/nlembra	
<p><b>14. Qual a origem da água?</b></p> <p>( ) 1 - rede geral</p> <p>( ) 2 - poço artesiano comunitário</p> <p>( ) 3 - cisterna</p> <p>( ) 4 - caixa d'água(chuva)</p> <p>( ) 5 - barragem</p> <p>( ) 6 - nascente</p> <p>( ) 7 - rio/córrego</p> <p>( ) 8- caminhão pipa</p> <p>( ) 9 - outro (ESPECIFICAR)_____</p>	<b>OriAgu</b>
<p><b>15. . Na sua casa tem canalização interna para água?</b></p> <p>( )1 – Sim ( )2 – Não</p>	<b>CanAgu</b>
<p><b>16. Na sua casa, qual o tratamento da água utilizada para beber?</b></p> <p>( ) 1-nenhum</p> <p>( ) 2-filtração</p> <p>( ) 3-cloração</p> <p>( ) 4-decantação</p> <p>( ) 5-fervura</p> <p>( ) 6- Mais de um método (especificar): _____</p>	<b>TratAgu</b>
<p><b>17. Qual é a situação de posse da sua casa?</b></p> <p>( )1- própria quitada ( )2-propria financiada ( )3-alugada</p> <p>( )4-cedida ( )5-outra_____</p> <p>( )77- nqr ( )88-nsa ( )99-nsabe/nlembra</p>	

<b>18. Qual é a situação de posse da terra?</b> <input type="checkbox"/> 1-meeiro <input type="checkbox"/> 2-arrendatário <input type="checkbox"/> 3-posseiro <input type="checkbox"/> 4-proprietário <input type="checkbox"/> 5-outra <input type="checkbox"/> 77- nqr <input type="checkbox"/> 88-nsa <input type="checkbox"/> 99-nsabe/nlembra	
<b>19. Qual é o tamanho da sua terra?</b> <input type="checkbox"/> 1-hectares <input type="checkbox"/> 2-alqueires <input type="checkbox"/> 3-m <sup>2</sup> <input type="checkbox"/> 4-quarta <input type="checkbox"/> 5-outra <input type="checkbox"/> 77- nqr <input type="checkbox"/> 88-nsa <input type="checkbox"/> 99-nsabe/nlembra	
<b>TRANSFORMAR EM HECTARES DEPOIS DE CONCLUIR A ENTREVISTA</b>	
<b>20. Vou fazer perguntas sobre o que tem na casa e a quantidade</b>	
<b>1. TV em cores?</b> <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais	
<b>2. Rádio?</b> <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais	
<b>3. Banheiro?</b> <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais (somente vaso sanitário!)	
<b>4. Carro particular?</b> <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 ou mais	
<b>5. EMPREGADA DOMESTICA?</b> <input type="checkbox"/> 1-Sim <input type="checkbox"/> 2-Não	
<b>6. Máquina de lavar</b> <input type="checkbox"/> 1-Sim <input type="checkbox"/> 2-Não (considerar tanquinho elétrico)	
<b>7. Geladeira comum ou duplex</b> <input type="checkbox"/> 1-Sim <input type="checkbox"/> 2-Não	
<b>8. Vídeo cassete/DVD:</b> <input type="checkbox"/> 1-Sim <input type="checkbox"/> 2-Não	
<b>9. Freezer:</b> <input type="checkbox"/> 1-Sim <input type="checkbox"/> 2-Não	

## ANEXO 4 – Questionário Socioeconômico

### ESTUDO SOBRE PARASITOSES INTESTINAIS E ESQUISTOSSOMOSE - DECIT

<b>IDENTIFICAÇÃO DA FAMÍLIA E DOMICÍLIO</b>	
<b>1. CÓDIGO DA COMUNIDADE</b>  <input type="checkbox"/> 1. Januária - MG  <input type="checkbox"/> 2. Montes Claros - MG  <input type="checkbox"/> 3. Primavera - PA  <input type="checkbox"/> 4. Turiaçu – MA	<b>CodCom</b>
<b>2. CÓDIGO DO DOMICÍLIO</b>	<b>CodDom</b>
<b>3. DATA DA ENTREVISTA</b> ____/____/____	<b>DatEnt</b>
<b>4. ENTREVISTADOR</b>	
<b>5. CÓDIGO DO RESULTADO DA ENTREVISTA</b>  <input type="checkbox"/> 1. Completa  <input type="checkbox"/> 2. Incompleta  <input type="checkbox"/> 3. Adiada  <input type="checkbox"/> 4. Recusa total  <input type="checkbox"/> 77. Outra (especificar) _____	<b>CodEnt</b>
<b>ASSINATURA DO ENTREVISTADOR</b>  _____	

**RESPOSTAS PADRONIZADAS NESTE QUESTIONÁRIO**

**77 = NÃO QUIS RESPONDER OU MOSTRAR**

**88 = NÃO SE APLICA**

**99 = NÃO SABE/NÃO LEMBRA**

**QUESTIONÁRIO 2**

**CARACTERIZAÇÃO DO ENTREVISTADO**

<p><b>1. CÓDIGO DO PARTICIPANTE (preencher depois) _____ - _____ - _____ - _____</b> (Comun-Casa-Número-NºVisita: ex. 02-014-2-II)</p>	
<p><b>2. DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____</b></p>	
<p><b>3. Idade: _____ anos</b></p>	
<p><b>4. Até que série o (a) Sr. (a) (ENTREVISTADO) estudou?</b></p> <p>1. ( ) Sem Estudo</p> <p>2. ( ) Ensino fundamental incompleto</p> <p>3. ( ) Ensino fundamental completo</p> <p>4. ( ) Ensino médio incompleto</p> <p>5. ( ) Ensino médio completo</p> <p>6. ( ) Ensino superior incompleto</p> <p>7. ( ) Ensino superior completo</p>	<p><b>Escola</b></p>
<p><b>5. O (a) Sr.(a) (ENTREVISTADO) sabe ler uma carta ou um jornal com?</b> ( )1- Facilidade ( )2- Com dificuldade ( )3-Não sabe ler</p>	<p><b>Ler</b></p>

<p><b>6. Você está trabalhando no momento?</b>  <input type="checkbox"/> 1- Sim <input type="checkbox"/> 2- Não <input type="checkbox"/> 3- Aposentado/pensionista  <input type="checkbox"/> 77- nqr <input type="checkbox"/> 99 - nsabe/nlembra          6.1. Se sim, qual o salário mensal? R\$ _____</p>	<b>Trabalha</b>
---	-----------------

**7. TEVE ALGUM DESTES PROBLEMAS DE SAÚDE NO ÚLTIMO MÊS? (Pode Marcar Mais De 1 Alternativa - Estas Devem Ser Lidas)**

<p><b>7.1 Diarréia</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>Diarr</b>
<p><b>7.2 Duração da diarréia em dias ( )</b></p>	<b>DuDiarr</b>
<p><b>7.3 Sangue nas fezes</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>SanFez</b>
<p><b>7.4 Febre</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>Febre</b>
<p><b>7.5 Vômitos</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>Vomit</b>
<p><b>7.6 Chiados no peito</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>ChiPeit</b>
<p><b>7.7 Coriza</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra</p>	<b>Coriz</b>
<p><b>7.8 Tosse seca</b></p>	<b>Tosse</b>



( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.9 Tosse com catarro claro</b>	<b>ToCaC</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.10 Tosse com catarro esverdeado</b>	<b>ToCaE</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.11 Tosse com catarro sanguinolento</b>	<b>ToCaS</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.12 Perda de apetite</b>	<b>PerApet</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.13 Eliminação de vermes</b>	<b>Verme</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.14 Abatimento / tristeza</b>	<b>Abati</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.15 Problema de garganta</b>	<b>Gargan</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	
<b>7.16 Diabetes</b>	<b>DorDen</b>
( ) 1. Sim      ( ) 2. Não      ( ) 77. Nqr      ( ) 88. Nsa      ( ) 99. Ns/Nlembra	

<b>7.17 Coceira entre os dedos dos pés ou das mãos</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>CocInter</b>
<b>7.18 Leishmaniose</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>Leish</b>
<b>7.19 Qual Leishmaniose, tegumentar ( feridas na pele e mucosas) ou visceral?</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>LeishTeg</b>
<b>7.20 A quanto tempo teve Leishmaniose (    )</b>	<b>TempLeish</b>
<b>7.21 Fez algum tratamento para Leishmaniose</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>TratLeish</b>

### No último ano (ANTES do Projeto DECIT)

<b>8. Usou algum remédio para verme (lombriga)</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>RemVer</b>
<b>9. Eliminou verme após o uso do remédio</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>EliVer</b>
<b>10. Ingere bebida alcoólica com que frequência? (pergunta deve ser feita a pessoas acima de 10 anos)?</b> <input type="checkbox"/> 1- todos os dias <input type="checkbox"/> 2- uma ou duas por semana	<b>FreqAlc</b>

<input type="checkbox"/> 3- uma vez por mês <input type="checkbox"/> 4- mais do uma vez por mês <input type="checkbox"/> 5. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	
<b>11. Consume cigarros?</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>Fumo</b>
<b>12. Quantos por dia?</b> <p style="text-align: center;">Número de cigarros: (       )</p>	<b>Quant Cig</b>
<b>13. Para sair de casa é obrigado a pisar na água?</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra	<b>PisaAg u</b>
<b>14. Costuma ir ao riacho ou córrego</b> <input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 77. Nqr <input type="checkbox"/> 88. Nsa <input type="checkbox"/> 99. Ns/Nlembra  <b>Se responder: Não, Nqr, Nsa, Nlembra, passe para questão 17.</b>	<b>ContA g</b>
<b>14.1. Se sim, com qual finalidade vai ao riacho</b>	
a) Banho	<b>RiBan</b>
b) lavagem de roupa	<b>RiLav R</b>
c) lavagem de utensílios domésticos/utensílios de trabalho	<b>RiLav U</b>

d) nadar/lazer	<b>RiNad</b>
e) pegar água para limpeza da água	<b>RiPeg Ag</b>
f) lavagem de carro / moto / bicicleta	<b>RiLav</b>
g) lavagem de animais domésticos	<b>RiLav An</b>
h) outros (especificar)	
( ) 77-Nqr ( ) 88-Nsa ( ) 9-Nsabe/Nlembra	
<b>16. Com que frequência vai ao riacho?</b>  <input type="checkbox"/> 1-nenhum <input type="checkbox"/> 2-diária <input type="checkbox"/> 3-semanal <input type="checkbox"/> 4-mensal <input type="checkbox"/> 5 -outros <input type="checkbox"/> 77-Nqr ( ) 88-Nsa ( ) 9-Nsabe/Nlembra	<b>FreqRi</b>
<b>17. Tem contato direto com a terra?</b>  <input type="checkbox"/> 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra  <b>Se responder: Não, Nqr, Nsa, Nlembra, passe para questão 18.</b>	<b>ContTe r</b>

<b>17.1. Se sim, como é o contato com a terra?</b>	
a) trabalha como lavrador	<b>TerLav</b>
b) anda descalço	<b>TerDes c</b>
c) brinca na terra em torno do peridomicílio	<b>TerBri n</b>
d) cuida diretamente de horta/jardim	<b>TerHJ ar</b>
e) limpa valas e córregos	<b>TerLi mp</b>
f) outros especificar ( )	
<b>18. Onde você nasceu (ENTREVISTADO)?</b> Cidade: _____ Estado: _____	
<b>19. Há quanto tempo mora nesta comunidade?</b> ANOS: _____ MESES: _____	<b>TempR es</b>
<b>20. Já residiu em outra comunidade dentro deste município?</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra  QUAL (Especificar ultimas 3) _____	<b>Muda NC</b>
<b>21. Já residiu em outro município?</b> ( ) 1. Sim ( ) 2. Não ( ) 77. Nqr ( ) 88. Nsa ( ) 99. Ns/Nlembra	<b>Muda Cid</b>

QUAL (Especificar os últimos 3) _____	
---------------------------------------	--

# APÊNDICE 1 – SAÍDAS DAS ANÁLISES MULTIVARIADAS

## Análises – Capítulo 1

### Cap1: Presença de Infecção por *S. mansoni*

```
. xi: logistic padraoouro i.idadecatdummy il17cat3 il6cat3 tnfalfacat3 il10cat3 il27 ccl3 ccl17 ccl15
eosinfilost0
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

Logistic regression                               Number of obs   =          175
                                                    LR chi2(12)     =          15.72
                                                    Prob > chi2     =          0.2042
Log likelihood = -111.64653                       Pseudo R2      =          0.0658
```

padraoouro	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	1.383277	.6348365	0.71	0.480	.5626801	3.400609
_Iidadecatd_3	.7650939	.526198	-0.39	0.697	.1987448	2.945329
_Iidadecatd_4	1.195047	.4701315	0.45	0.651	.5527418	2.583733
il17cat3	3.827244	3.310776	1.55	0.121	.7023441	20.85558
il6cat3	2.180138	.8204481	2.07	0.038	1.042684	4.558431
tnfalfacat3	2.725184	1.736265	1.57	0.116	.7817709	9.499746
il10cat3	.3442712	.1709413	-2.15	0.032	.1300927	.9110632
il27	1	4.92e-08	-1.01	0.314	.9999999	1
ccl3	.997258	.0044138	-0.62	0.535	.9886446	1.005946
ccl17	1.000028	.0000287	0.99	0.323	.9999721	1.000085
ccl15	.9999432	.000112	-0.51	0.612	.9997238	1.000163
eosinfilost0	1.000475	.0003465	1.37	0.170	.9997961	1.001154
_cons	.5673836	.2561979	-1.26	0.209	.2341655	1.374772

```
. xi: logistic padraoouro i.idadecatdummy il17cat3 il6cat3 tnfalfacat3 il10cat3 il27 ccl3 ccl17
eosinfilost0
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

Logistic regression                               Number of obs   =          177
                                                    LR chi2(11)     =          16.58
                                                    Prob > chi2     =          0.1210
Log likelihood = -112.89988                       Pseudo R2      =          0.0684
```

padraoouro	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	1.474971	.6713867	0.85	0.393	.6044055	3.599472
_Iidadecatd_3	.835141	.5714878	-0.26	0.792	.2184146	3.193286
_Iidadecatd_4	1.292198	.5016038	0.66	0.509	.6038247	2.765333
il17cat3	3.962791	3.428602	1.59	0.112	.7270138	21.60029
il6cat3	2.182849	.8122531	2.10	0.036	1.052655	4.526491
tnfalfacat3	2.595805	1.590638	1.56	0.120	.7810503	8.627106
il10cat3	.3449544	.1681677	-2.18	0.029	.1326768	.8968677
il27	1	4.92e-08	-1.01	0.311	.9999999	1
ccl3	.9971574	.0044059	-0.64	0.519	.9885593	1.00583
ccl17	1.00003	.0000288	1.04	0.300	.9999734	1.000086
eosinfilost0	1.000464	.0003412	1.36	0.174	.9997952	1.001133
_cons	.5249868	.2324279	-1.46	0.146	.2204424	1.250264

```
. xi: logistic padraoouro i.idadecatdummy il17cat3 il6cat3 tnfalfacat3 il10cat3 il27 ccl17
eosinfilost0
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

Logistic regression                               Number of obs   =          178
                                                    LR chi2(10)     =          16.12
                                                    Prob > chi2     =          0.0963
Log likelihood = -113.95742                       Pseudo R2      =          0.0661
```

padraoouro	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	1.43889	.6522425	0.80	0.422	.5918092	3.498433
_Iidadecatd_3	.8135	.5552399	-0.30	0.762	.2134937	3.099774

```

_Iidadecatd_4 | 1.195658 .4536062 0.47 0.638 .5684337 2.514977
  ill17cat3 | 3.943885 3.395072 1.59 0.111 .7297466 21.31456
  il6cat3 | 2.085229 .7675385 2.00 0.046 1.013539 4.290097
  tnfalfacat3 | 2.502939 1.524972 1.51 0.132 .7582918 8.2616
  ill10cat3 | .3698026 .1775014 -2.07 0.038 .1443451 .9474095
  il27 | 1 4.91e-08 -0.95 0.341 .9999999 1
  ccl17 | 1.000031 .0000291 1.05 0.295 .9999735 1.000088
  eosinfilost0 | 1.000474 .0003408 1.39 0.164 .999806 1.001142
  _cons | .5222513 .2305719 -1.47 0.141 .2198251 1.240743

```

```

. xi: logistic padraoouro i.iidadecatdummy ill17cat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill10cat3 ccl17 eosinfilost0
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

```

```

Logistic regression          Number of obs   =      179
                             LR chi2(9)         =      15.94
                             Prob > chi2        =      0.0682
Log likelihood = -114.62333   Pseudo R2      =      0.0650

```

```

-----+-----
      padraoouro | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 | 1.443183    .6521358     0.81  0.417    .5952322   3.499102
_Iidadecatd_3 | .8077241    .549601     -0.31  0.754    .2128525   3.06512
_Iidadecatd_4 | 1.193354    .451946     0.47  0.641    .5680713   2.506892
  ill17cat3 | 3.935682    3.235962     1.67  0.096    .7855111   19.71912
  il6cat3 | 2.100073    .7709159     2.02  0.043    1.022744   4.312231
  tnfalfacat3 | 2.222812    1.30715     1.36  0.174    .7020104   7.038202
  ill10cat3 | .3620827    .1735101    -2.12  0.034    .1415507   .9261976
  ccl17 | 1.000029    .0000283     1.02  0.306    .9999735   1.000084
  eosinfilost0 | 1.000483    .0003391     1.42  0.155    .9998181   1.001147
  _cons | .4946004    .2167293    -1.61  0.108    .2095394   1.167463

```

```

. xi: logistic padraoouro i.iidadecatdummy ill17cat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill10cat3 eosinfilost0
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

```

```

Logistic regression          Number of obs   =      188
                             LR chi2(8)         =      14.28
                             Prob > chi2        =      0.0748
Log likelihood = -121.88177   Pseudo R2      =      0.0553

```

```

-----+-----
      padraoouro | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 | 1.373375    .6034299     0.72  0.470    .580484   3.249285
_Iidadecatd_3 | .658973    .4295801    -0.64  0.522    .1836433   2.364613
_Iidadecatd_4 | 1.192394    .4364931     0.48  0.631    .5818691   2.443512
  ill17cat3 | 4.467969    3.608043     1.85  0.064    .9177716   21.75132
  il6cat3 | 1.817889    .6445934     1.69  0.092    .9072884   3.642414
  tnfalfacat3 | 2.22903    1.280709     1.40  0.163    .7228542   6.873551
  ill10cat3 | .4359061    .200536     -1.80  0.071    .1769305   1.073948
  eosinfilost0 | 1.000487    .0003253     1.50  0.134    .99985   1.001125
  _cons | .5609298    .2312532    -1.40  0.161    .2500263   1.258437

```

```

. xi: logistic padraoouro i.iidadecatdummy ill17cat3 il6cat3 ill10cat3 eosinfilost0
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

```

```

Logistic regression          Number of obs   =      188
                             LR chi2(7)         =      12.22
                             Prob > chi2        =      0.0936
Log likelihood = -122.9118   Pseudo R2      =      0.0474

```

```

-----+-----
      padraoouro | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 | 1.450047    .6312818     0.85  0.393    .617745   3.403729
_Iidadecatd_3 | .6794907    .4438915    -0.59  0.554    .1888506   2.44483
_Iidadecatd_4 | 1.178329    .4294511     0.45  0.653    .5768188   2.407097
  ill17cat3 | 4.40032    3.525188     1.85  0.064    .9153117   21.15434
  il6cat3 | 1.702923    .5936254     1.53  0.127    .8599496   3.372229
  ill10cat3 | .5083117    .2242713    -1.53  0.125    .2140785   1.206944
  eosinfilost0 | 1.000504    .0003271     1.54  0.123    .9998629   1.001145
  _cons | .6094179    .2457364    -1.23  0.219    .276493   1.343218

```



```
. xi: logistic padraoouro i.idadecatdummy ill17cat3 ill10cat3 eosinfilost0
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
```

```
Logistic regression          Number of obs   =      193
                             LR chi2(6)           =      10.79
                             Prob > chi2          =      0.0952
Log likelihood = -127.01004   Pseudo R2      =      0.0407
```

	padraoouro	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2		1.565463	.672936	1.04	0.297	.6741279 3.635328
_Iidadecatd_3		.6240896	.3803637	-0.77	0.439	.1890016 2.060765
_Iidadecatd_4		1.253594	.4515633	0.63	0.530	.6187869 2.539641
ill17cat3		4.202552	3.348697	1.80	0.072	.8815655 20.03418
ill10cat3		.5153946	.2212887	-1.54	0.123	.222162 1.195666
eosinfilost0		1.000412	.0003212	1.28	0.200	.9997823 1.001041
_cons		.9148569	.2850434	-0.29	0.775	.4967558 1.684858

```
. xi: logistic padraoouro i.idadecatdummy ill17cat3 ill10cat3
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
```

```
Logistic regression          Number of obs   =      202
                             LR chi2(5)           =       9.39
                             Prob > chi2          =      0.0945
Log likelihood = -134.32941   Pseudo R2      =      0.0338
```

	padraoouro	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2		1.548485	.6387232	1.06	0.289	.6899235 3.475464
_Iidadecatd_3		.8155318	.4521504	-0.37	0.713	.275115 2.417505
_Iidadecatd_4		1.292515	.4534909	0.73	0.465	.6498061 2.570914
ill17cat3		5.031334	3.95278	2.06	0.040	1.078826 23.46469
ill10cat3		.5539	.2284044	-1.43	0.152	.2468497 1.242882
_cons		1.026713	.2738351	0.10	0.921	.6087303 1.731703

```
. xi: logistic padraoouro i.idadecatdummy ill17cat3
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
```

```
Logistic regression          Number of obs   =      205
                             LR chi2(4)           =       6.70
                             Prob > chi2          =      0.1525
Log likelihood = -137.66673   Pseudo R2      =      0.0238
```

	padraoouro	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2		1.430188	.5835498	0.88	0.381	.6428109 3.182021
_Iidadecatd_3		.8260559	.4401724	-0.36	0.720	.2906952 2.347367
_Iidadecatd_4		1.15098	.3961029	0.41	0.683	.586316 2.259455
ill17cat3		4.927273	3.862098	2.03	0.042	1.060272 22.89791
_cons		1.011877	.2646555	0.05	0.964	.6060337 1.689502

## Cap. 1: Intensidade de infecção por *S. mansoni*

```
. . xi: logistic opgcatalise i.idadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill10cat3
il33cat3 il5cat3 il27 ccl17 ccl11 ccl3 ccl5 plaquetascont
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: _Iidadecatd_3 != 0 predicts failure perfectly
      _Iidadecatd_3 dropped and 2 obs not used
```

```
note: ill10cat3 != 0 predicts failure perfectly
      ill10cat3 dropped and 7 obs not used
```

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
 il5cat3 dropped and 10 obs not used

```

Logistic regression                               Number of obs   =           53
                                                    LR chi2(12)     =           16.21
                                                    Prob > chi2     =           0.1818
Log likelihood = -23.471712                       Pseudo R2      =           0.2567
  
```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .6587546   .7385319   -0.37   0.710    .0731878    5.929369
_Iidadecatd_3 |           1   (omitted)
_Iidadecatd_4 |   .1469845   .1580661   -1.78   0.075    .0178606    1.209617
  illbetacat3 |   .5973289   .5351021   -0.58   0.565    .1032015    3.457332
    il6cat3   |   .5943043   .5190947   -0.60   0.551    .1072821    3.292231
  tnfalfacat3 |   2.910031   3.327693    0.93   0.350    .3094051    27.36956
    ill0cat3   |           1   (omitted)
    il33cat3   |   1.470123   1.188039    0.48   0.633    .3016329    7.165206
    il5cat3   |           1   (omitted)
    il27       |           1   1.36e-07    0.36   0.718    .9999998           1
    ccl17      |   .9999981   .0000385   -0.05   0.960    .9999227    1.000073
    ccl11      |   .9963909   .0039931   -0.90   0.367    .9885952    1.004248
    ccl3       |   1.002779   .0116199    0.24   0.811    .9802607    1.025814
    ccl5       |   1.000057   .0015247    0.04   0.970    .9970728    1.003049
plaquetascont |   1.000009   7.30e-06    1.21   0.226    .9999945    1.000023
  _cons       |   .143975   .2829552   -0.99   0.324    .0030578    6.778918
-----+-----
  
```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill0cat3
il33cat3 il5cat3 il27 ccl17 ccl11 ccl3 plaquetascont
i.iadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: _Iidadecatd_3 != 0 predicts failure perfectly
      _Iidadecatd_3 dropped and 2 obs not used
  
```

note: ill0cat3 != 0 predicts failure perfectly  
 ill0cat3 dropped and 7 obs not used

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
 il5cat3 dropped and 10 obs not used

```

Logistic regression                               Number of obs   =           53
                                                    LR chi2(11)     =           16.21
                                                    Prob > chi2     =           0.1336
Log likelihood = -23.472402                       Pseudo R2      =           0.2566
  
```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .6585629   .7382214   -0.37   0.709    .0731874    5.925957
_Iidadecatd_3 |           1   (omitted)
_Iidadecatd_4 |   .1466205   .1574079   -1.79   0.074    .01788      1.202326
  illbetacat3 |   .5962243   .5332184   -0.58   0.563    .1033139    3.440809
    il6cat3   |   .5963682   .518018    -0.60   0.552    .1086783    3.272548
  tnfalfacat3 |   2.908405   3.322812    0.93   0.350    .3098625    27.29862
    ill0cat3   |           1   (omitted)
    il33cat3   |   1.479518   1.16866    0.50   0.620    .3146025    6.957898
    il5cat3   |           1   (omitted)
    il27       |           1   1.34e-07    0.36   0.719    .9999998           1
    ccl17      |   .9999979   .0000381   -0.06   0.956    .9999232    1.000073
    ccl11      |   .9963579   .0038958   -0.93   0.351    .9887515    1.004023
    ccl3       |   1.002732   .0115466    0.24   0.813    .9803544    1.02562
    ccl5       |   1.000009   7.30e-06    1.21   0.226    .9999945    1.000023
plaquetascont |   1.000009   7.30e-06    1.21   0.226    .9999945    1.000023
  _cons       |   .1451266   .2837715   -0.99   0.324    .0031431    6.700909
-----+-----
  
```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill0cat3
il33cat3 il5cat3 il27 ccl11 ccl3 plaquetascont
i.iadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
  
```

note: \_Iidadecatd\_3 != 0 predicts failure perfectly  
\_Iidadecatd\_3 dropped and 2 obs not used

note: il10cat3 != 0 predicts failure perfectly  
il10cat3 dropped and 8 obs not used

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
il5cat3 dropped and 10 obs not used

```

Logistic regression                               Number of obs   =          53
                                                  LR chi2(10)     =          16.21
                                                  Prob > chi2     =          0.0939
Log likelihood = -23.473922                    Pseudo R2      =          0.2566

```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .6646017   .7364667    -0.37   0.712    .0757386    5.831839
_Iidadecatd_3 |           1   (omitted)
_Iidadecatd_4 |   .147309    .1575087    -1.79   0.073    .0181172    1.197755
_illbetacat3 |   .5953573   .531998     -0.58   0.562    .1033149    3.430776
  il6cat3 |   .5982925   .5182894    -0.59   0.553    .1095302    3.268084
  tnfalfacat3 |  2.907059    3.318036     0.93   0.350    .3103958    27.22649
  il10cat3 |           1   (omitted)
  il33cat3 |  1.483099    1.168773     0.50   0.617    .3164983    6.949746
  il5cat3 |           1   (omitted)
  il127 |           1   1.32e-07     0.38   0.707    .9999998           1
  ccl11 |   .9963837   .0038627    -0.93   0.350    .9888416    1.003983
  ccl13 |   1.002643   .0114455     0.23   0.817    .9804594    1.025329
plaquetascont |  1.000009    6.83e-06     1.27   0.203    .9999953    1.000022
  _cons |   .1481046   .284141    -1.00   0.320    .0034477    6.362276
-----+-----

```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 il10cat3
i133cat3 il5cat3 il27 ccl11 plaquetascont
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: _Iidadecatd_3 != 0 predicts failure perfectly
_Iidadecatd_3 dropped and 2 obs not used

```

note: il10cat3 != 0 predicts failure perfectly  
il10cat3 dropped and 8 obs not used

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
il5cat3 dropped and 10 obs not used

```

Logistic regression                               Number of obs   =          53
                                                  LR chi2(9)      =          16.15
                                                  Prob > chi2     =          0.0638
Log likelihood = -23.500652                    Pseudo R2      =          0.2558

```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .6909445   .7547883    -0.34   0.735    .0812063    5.878905
_Iidadecatd_3 |           1   (omitted)
_Iidadecatd_4 |   .1498616   .1600156    -1.78   0.075    .0184848    1.21497
_illbetacat3 |   .5921219   .5289275    -0.59   0.557    .1028145    3.410106
  il6cat3 |   .6142127   .5277213    -0.57   0.571    .1140199    3.308696
  tnfalfacat3 |  3.173623    3.420412     1.07   0.284    .3838504    26.23908
  il10cat3 |           1   (omitted)
  il33cat3 |  1.473062    1.158344     0.49   0.622    .3154115    6.879622
  il5cat3 |           1   (omitted)
  il127 |           1   1.30e-07     0.34   0.733    .9999998           1
  ccl11 |   .9963255   .0038483    -0.95   0.341    .9888114    1.003897
plaquetascont |  1.000009    6.83e-06     1.28   0.200    .9999954    1.000022
  _cons |   .1493397   .286565    -0.99   0.322    .0034739    6.419916
-----+-----

```

```
. . xi: logistic opgcatalanise i.idadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill0cat3
il33cat3 il5cat3 ccl11 plaquetascont
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: _Iidadecatd_3 != 0 predicts failure perfectly
_Iidadecatd_3 dropped and 2 obs not used
```

```
note: ill0cat3 != 0 predicts failure perfectly
ill0cat3 dropped and 8 obs not used
```

```
note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly
il5cat3 dropped and 10 obs not used
```

```
Logistic regression                                Number of obs    =          53
                                                    LR chi2(8)       =          16.03
                                                    Prob > chi2      =          0.0419
Log likelihood = -23.5598                          Pseudo R2        =          0.2539
```

opgcatalanise	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2	.6971522	.7599258	-0.33	0.741	.0823155 5.904372
_Iidadecatd_3	1	(omitted)			
_Iidadecatd_4	.1619511	.1666994	-1.77	0.077	.021539 1.217705
illbetacat3	.6025279	.5379948	-0.57	0.570	.104699 3.467462
il6cat3	.6621948	.5492972	-0.50	0.619	.1302883 3.365626
tnfalfacat3	3.221974	3.436978	1.10	0.273	.3982167 26.06901
ill0cat3	1	(omitted)			
il33cat3	1.459929	1.146406	0.48	0.630	.313276 6.803558
il5cat3	1	(omitted)			
ccl11	.9961364	.0038153	-1.01	0.312	.9886865 1.003643
plaquetascont	1.00001	5.98e-06	1.65	0.098	.9999982 1.000022
_cons	.1138128	.1982844	-1.25	0.212	.0037431 3.460607

```
. . xi: logistic opgcatalanise i.idadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill0cat3
il5cat3 ccl11 plaquetascont
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: ill0cat3 != 0 predicts failure perfectly
ill0cat3 dropped and 9 obs not used
```

```
note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly
il5cat3 dropped and 11 obs not used
```

```
Logistic regression                                Number of obs    =          60
                                                    LR chi2(8)       =          15.13
                                                    Prob > chi2      =          0.0566
Log likelihood = -29.084481                          Pseudo R2        =          0.2065
```

opgcatalanise	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2	.6524909	.6529692	-0.43	0.670	.0917802 4.638739
_Iidadecatd_3	.1820665	.2768734	-1.12	0.263	.0092424 3.586534
_Iidadecatd_4	.2341198	.1933363	-1.76	0.079	.0463997 1.181302
illbetacat3	1.401143	1.092254	0.43	0.665	.3040412 6.457023
il6cat3	.3576247	.2621404	-1.40	0.161	.0850145 1.504395
tnfalfacat3	2.64167	2.691578	0.95	0.340	.3585881 19.46083
ill0cat3	1	(omitted)			
il5cat3	1	(omitted)			
ccl11	.9994595	.0032688	-0.17	0.869	.9930733 1.005887
plaquetascont	1.000009	5.30e-06	1.69	0.091	.9999986 1.000019
_cons	.1515696	.2337789	-1.22	0.221	.0073745 3.115255

```
. . xi: logistic opgcatalanise i.idadecatdummy illbetacat3 il6cat3 tnfalfacat3 ill0cat3
il5cat3 plaquetascont
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: ill0cat3 != 0 predicts failure perfectly
ill0cat3 dropped and 11 obs not used
```

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
 il5cat3 dropped and 12 obs not used

```

Logistic regression                Number of obs   =          64
                                   LR chi2(7)         =          16.84
                                   Prob > chi2        =          0.0185
Log likelihood = -32.084152        Pseudo R2      =          0.2078
  
```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .5823051   .5461885    -0.58   0.564    .0926283    3.660645
_Iidadecatd_3 |   .2981325   .356306    -1.01   0.311    .0286494    3.102434
_Iidadecatd_4 |   .2109826   .1698614    -1.93   0.053    .0435459    1.022225
  illbetacat3 |   1.377108   .9288942     0.47   0.635    .3671223    5.165651
    il6cat3   |   .4152549   .2750036    -1.33   0.184    .1133978    1.520636
  tnfalfacat3 |   2.525666   2.559471     0.91   0.361    .3465623    18.40647
    ill10cat3 |           1   (omitted)
    il5cat3   |           1   (omitted)
plaquetascont |   1.000011   5.14e-06     2.05   0.040           1    1.000021
  _cons      |   .0968509   .1412614    -1.60   0.109    .0055538    1.688961
-----+-----
  
```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy illbetacat3 il6cat3   ill10cat3   il5cat3
plaquetascont
i.iidadecatdummy   _Iidadecatd_1-4   (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: ill10cat3 != 0 predicts failure perfectly
      ill10cat3 dropped and 11 obs not used
  
```

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
 il5cat3 dropped and 12 obs not used

```

Logistic regression                Number of obs   =          64
                                   LR chi2(6)         =          15.99
                                   Prob > chi2        =          0.0138
Log likelihood = -32.505698        Pseudo R2      =          0.1974
  
```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .7663125   .6760371    -0.30   0.763    .1359816    4.318488
_Iidadecatd_3 |   .2863122   .3414055    -1.05   0.294    .0276597    2.963691
_Iidadecatd_4 |   .2299827   .1795616    -1.88   0.060    .0497863    1.062381
  illbetacat3 |   1.343012   .8953389     0.44   0.658    .3635916    4.960735
    il6cat3   |   .4397546   .28902     -1.25   0.211    .121276     1.594578
    ill10cat3 |           1   (omitted)
    il5cat3   |           1   (omitted)
plaquetascont |   1.000011   5.10e-06     2.09   0.036           1    1.000021
  _cons      |   .0947491   .1368504    -1.63   0.103    .0055866    1.606957
-----+-----
  
```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy illbetacat3   ill10cat3   il5cat3
plaquetascont
i.iidadecatdummy   _Iidadecatd_1-4   (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: ill10cat3 != 0 predicts failure perfectly
      ill10cat3 dropped and 11 obs not used
  
```

note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly  
 il5cat3 dropped and 14 obs not used

```

Logistic regression                Number of obs   =          65
                                   LR chi2(5)         =          14.38
                                   Prob > chi2        =          0.0134
Log likelihood = -33.706036        Pseudo R2      =          0.1758
  
```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
  
```

```

-----+-----
_Iidadecatd_2 | .7243527 .6236427 -0.37 0.708 .1339969 3.915663
_Iidadecatd_3 | .2278154 .2518577 -1.34 0.181 .0260946 1.988911
_Iidadecatd_4 | .2179794 .1696802 -1.96 0.050 .0474046 1.002329
_illbetacat3 | 1.29733 .8384261 0.40 0.687 .3655474 4.604229
  il10cat3 | 1 (omitted)
  il5cat3 | 1 (omitted)
plaquetascont | 1.000011 5.01e-06 2.25 0.024 1.000001 1.000021
  _cons | .0479792 .064716 -2.25 0.024 .0034113 .6748125
-----+-----

```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy illbetacat3 il5cat3 plaquetascont
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5cat3 != 0 predicts failure perfectly
      il5cat3 dropped and 15 obs not used

```

```

Logistic regression                Number of obs   =          76
                                   LR chi2(5)         =          14.03
                                   Prob > chi2        =          0.0154
Log likelihood = -37.784815        Pseudo R2       =          0.1565

```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 | .511124     .3952069     -0.87  0.385    .1122968    2.326404
_Iidadecatd_3 | .2990741   .3223711     -1.12  0.263    .0361636    2.473355
_Iidadecatd_4 | .1812547   .1358185     -2.28  0.023    .0417315    .787254
_illbetacat3 | 1.471309   .8763983      0.65  0.517    .4578022    4.728569
  il5cat3 | 1 (omitted)
plaquetascont | 1.00001    4.80e-06     2.04  0.042    1          1.000019
  _cons | .0564873   .0741001     -2.19  0.028    .0043186    .7388536
-----+-----

```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy illbetacat3 plaquetascont
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

```

```

Logistic regression                Number of obs   =          107
                                   LR chi2(5)         =          12.94
                                   Prob > chi2        =          0.0240
Log likelihood = -52.86313        Pseudo R2       =          0.1090

```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 | .4956113   .2895174     -1.20  0.229    .1577253    1.557331
_Iidadecatd_3 | .4627115   .4427902     -0.81  0.421    .0709179    3.019012
_Iidadecatd_4 | .1930917   .1272822     -2.49  0.013    .053048     .7028435
_illbetacat3 | 1.86975    .9137247      1.28  0.200    .7174828    4.872543
plaquetascont | 1.000003   3.32e-06     0.90  0.366    .9999965    1.00001
  _cons | .2415434   .2306519     -1.49  0.137    .0371685    1.569694
-----+-----

```

```

. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy illbetacat3
i.iidadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

```

```

Logistic regression                Number of obs   =          112
                                   LR chi2(4)         =          11.09
                                   Prob > chi2        =          0.0256
Log likelihood = -57.436265        Pseudo R2       =          0.0880

```

```

-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 | .5154059   .2973752     -1.15  0.251    .1663525    1.59687
_Iidadecatd_3 | .6659913   .535994      -0.51  0.614    .1375359    3.224935
_Iidadecatd_4 | .1969239   .1182878     -2.71  0.007    .0606737    .6391405
_illbetacat3 | 1.77603    .8319072      1.23  0.220    .709154     4.447953
  _cons | .5381143   .2234958     -1.49  0.136    .2384206    1.214522
-----+-----

```

```
. . xi: logistic opgcatanalise i.iidadecatdummy
i.iidadecatdummy  _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs    =        140
                                   LR chi2(3)         =         9.62
                                   Prob > chi2        =        0.0221
Log likelihood = -70.445769         Pseudo R2       =        0.0639
```

```
-----+-----
opgcatanalise | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |   .5111111   .2802367    -1.22   0.221     .1745061    1.496994
_Iidadecatd_3 |   .3066667   .2190349    -1.65   0.098     .0756312    1.243462
_Iidadecatd_4 |   .2190476   .114537     -2.90   0.004     .0786062    .6104081
   _cons      |   .6521739   .2164441    -1.29   0.198     .3403031    1.249859
-----+-----
```







```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.il13cat2 cxcl10 illbetacat3
tnfalfacat3 il6cat3 il13cat3
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4   (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2         _Iil10cat2_0-2     (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.il13cat2         _Iil13cat2_0-2     (naturally coded; _Iil13cat2_0 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs   =      154
                                   LR chi2(13)       =      31.32
                                   Prob > chi2        =      0.0030
Log likelihood = -64.354537         Pseudo R2      =      0.1957
```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	.4019665	.2848697	-1.29	0.198	.1002194	1.612234
_Iidadecatd_3	1.815402	1.568597	0.69	0.490	.3338047	9.873089
_Iidadecatd_4	.6310452	.3552208	-0.82	0.413	.2093687	1.901994
opgcat4	.2368363	.2031961	-1.68	0.093	.0440708	1.272756
_Iil10cat2_1	7.53587	6.348875	2.40	0.017	1.445463	39.288
_Iil10cat2_2	.534818	.5894192	-0.57	0.570	.0616741	4.63777
_Iil13cat2_1	2.608067	1.674484	1.49	0.135	.740991	9.179614
_Iil13cat2_2	3.631127	1.997425	2.34	0.019	1.235404	10.67269
cxcl10	1.002875	.0017769	1.62	0.105	.999398	1.006363
illbetacat3	1.898063	.9136578	1.33	0.183	.7388795	4.875821
tnfalfacat3	5.462052	4.128112	2.25	0.025	1.241751	24.02576
il6cat3	1.219225	.6422997	0.38	0.707	.4341728	3.423775
il13cat3	.5932744	.2848324	-1.09	0.277	.2315218	1.520265
_cons	.093721	.0647468	-3.43	0.001	.0241985	.362983

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.tnfalfacat1
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4   (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2         _Iil10cat2_0-2     (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
variable tnfalfacat1 not found
r(111);
```

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.tnfalfacat
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4   (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2         _Iil10cat2_0-2     (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat      _Itnfalfaca_0-2     (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs   =      191
                                   LR chi2(8)       =      24.80
                                   Prob > chi2        =      0.0017
Log likelihood = -93.038532         Pseudo R2      =      0.1176
```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	.5348566	.2976523	-1.12	0.261	.1796952	1.591983
_Iidadecatd_3	2.955203	1.996872	1.60	0.109	.7859926	11.11108
_Iidadecatd_4	.6799722	.3019936	-0.87	0.385	.2847411	1.623799
opgcat4	.2072639	.1662576	-1.96	0.050	.0430258	.9984318
_Iil10cat2_1	4.854945	3.015089	2.54	0.011	1.437337	16.39872
_Iil10cat2_2	2.320547	1.498462	1.30	0.192	.6545434	8.227013
_Itnfalfaca_1	1.493845	1.475711	0.41	0.685	.2154948	10.35558
_Itnfalfaca_2	6.665481	5.027225	2.52	0.012	1.519988	29.2296
_cons	.3082586	.1044309	-3.47	0.001	.1586894	.598801

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.tnfalfacat2
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4   (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2         _Iil10cat2_0-2     (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat2     _Itnfalfaca_0-2     (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs   =      191
                                   LR chi2(8)       =      23.25
                                   Prob > chi2        =      0.0031
Log likelihood = -93.814499         Pseudo R2      =      0.1103
```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	.5115575	.2898927	-1.18	0.237	.168473	1.553312
_Iidadecatd_3	2.756639	1.872809	1.49	0.136	.7279295	10.43927
_Iidadecatd_4	.7146401	.3126405	-0.77	0.442	.3031824	1.684499
opgcat4	.2001082	.1645588	-1.96	0.050	.0399282	1.002881

_Iil10cat2_1		5.027312	3.073584	2.64	0.008	1.516808	16.66253
_Iil10cat2_2		1.968988	1.280106	1.04	0.297	.5506147	7.041061
_Itnfalfaca_1		3.617649	2.260445	2.06	0.040	1.063073	12.31089
_Itnfalfaca_2		6.361217	10.02964	1.17	0.241	.2893766	139.8353
_cons		.3093497	.1050882	-3.45	0.001	.1589611	.6020169

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.il33cat2 cxcl10 illbetacat3
i.tnfalfacat il6cat3 ill3cat3
i.idadecatdummy    _Iidadecatd_1-4    (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2          _Iil10cat2_0-2    (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.il33cat2          _Iil33cat2_0-2    (naturally coded; _Iil33cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat       _Itnfalfaca_0-2    (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
note: _Itnfalfaca_1 != 0 predicts failure perfectly
      _Itnfalfaca_1 dropped and 4 obs not used
```

```
Logistic regression                Number of obs   =      150
                                LR chi2(13)        =      32.79
                                Prob > chi2         =      0.0018
Log likelihood = -62.639673        Pseudo R2       =      0.2075
```

igeespeccat		Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2		.4336087	.3114396	-1.16	0.245	.1061017 1.772041
_Iidadecatd_3		1.801364	1.545393	0.69	0.493	.3352385 9.679409
_Iidadecatd_4		.585696	.3371334	-0.93	0.353	.1895443 1.809813
opgcat4		.296216	.2520759	-1.43	0.153	.0558788 1.570253
_Iil10cat2_1		7.388944	6.311076	2.34	0.019	1.385321 39.41071
_Iil10cat2_2		.8128356	.9471578	-0.18	0.859	.0828207 7.977494
_Iil33cat2_1		3.0911	2.020082	1.73	0.084	.8586964 11.12721
_Iil33cat2_2		3.510191	1.957165	2.25	0.024	1.176872 10.46965
cxcl10		1.002402	.0019266	1.25	0.212	.9986335 1.006185
illbetacat3		1.735526	.8531915	1.12	0.262	.6621819 4.548678
_Itnfalfaca_1		1	(omitted)			
_Itnfalfaca_2		10.05973	8.593163	2.70	0.007	1.885721 53.66545
il6cat3		1.227419	.6564811	0.38	0.702	.4302592 3.501509
ill3cat3		.6222278	.2992256	-0.99	0.324	.2424441 1.596935
_cons		.0986245	.0687819	-3.32	0.001	.025139 .3869211

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.il33cat2 cxcl10 illbetacat3
i.tnfalfacat ill3cat3
i.idadecatdummy    _Iidadecatd_1-4    (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2          _Iil10cat2_0-2    (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.il33cat2          _Iil33cat2_0-2    (naturally coded; _Iil33cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat       _Itnfalfaca_0-2    (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
note: _Itnfalfaca_1 != 0 predicts failure perfectly
      _Itnfalfaca_1 dropped and 4 obs not used
```

```
Logistic regression                Number of obs   =      151
                                LR chi2(12)        =      30.69
                                Prob > chi2         =      0.0022
Log likelihood = -65.193789        Pseudo R2       =      0.1905
```

igeespeccat		Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2		.4578884	.3244821	-1.10	0.270	.1141712 1.83638
_Iidadecatd_3		1.880208	1.585203	0.75	0.454	.3602122 9.81417
_Iidadecatd_4		.6764459	.3776518	-0.70	0.484	.2264734 2.020454
opgcat4		.3002512	.2531021	-1.43	0.154	.0575373 1.566824
_Iil10cat2_1		6.544035	5.470428	2.25	0.025	1.271426 33.68217
_Iil10cat2_2		.7932429	.8993406	-0.20	0.838	.0859716 7.319096
_Iil33cat2_1		2.835473	1.812743	1.63	0.103	.8099249 9.926728
_Iil33cat2_2		3.319449	1.827594	2.18	0.029	1.128285 9.765925
cxcl10		1.002203	.0018252	1.21	0.227	.998632 1.005787
illbetacat3		1.630121	.7801624	1.02	0.307	.6380313 4.164836
_Itnfalfaca_1		1	(omitted)			
_Itnfalfaca_2		9.157096	7.721213	2.63	0.009	1.753999 47.80642
ill3cat3		.5753266	.2707854	-1.17	0.240	.2287097 1.447252
_cons		.1300286	.0775578	-3.42	0.001	.0403948 .4185552

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.il33cat2 cxcl10 illbetacat3
```

```

i.tnfalfacat
i.idadecatdummy  _Iidadecatd_1-4  (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2        _Iil10cat2_0-2  (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.il133cat2       _Iil133cat2_0-2  (naturally coded; _Iil133cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat     _Itnfalfaca_0-2  (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
note: _Itnfalfaca_1 != 0 predicts failure perfectly
      _Itnfalfaca_1 dropped and 5 obs not used

```

```

Logistic regression          Number of obs   =      167
                             LR chi2(11)        =      29.50
                             Prob > chi2        =      0.0019
Log likelihood = -74.811254   Pseudo R2      =      0.1647

```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2	.3802439	.2448297	-1.50	0.133	.1076452 1.343167
_Iidadecatd_3	1.557419	1.245238	0.55	0.580	.3249564 7.46424
_Iidadecatd_4	.6769586	.3475317	-0.76	0.447	.2475022 1.851592
opgcat4	.2844079	.2378481	-1.50	0.133	.055219 1.464855
_Iil10cat2_1	6.965994	4.985938	2.71	0.007	1.712901 28.32918
_Iil10cat2_2	1.669827	1.499208	0.57	0.568	.2873716 9.702846
_Iil133cat2_1	1.967987	1.197934	1.11	0.266	.5968799 6.488697
_Iil133cat2_2	2.523291	1.278021	1.83	0.068	.9350665 6.809138
cxcl10	1.001656	.0017272	0.96	0.337	.9982769 1.005047
illbetacat3	2.150559	.9602865	1.71	0.086	.896325 5.159854
_Itnfalfaca_1	1	(omitted)			
_Itnfalfaca_2	8.281169	6.852973	2.55	0.011	1.635652 41.92686
_cons	.1197715	.0637635	-3.99	0.000	.0421885 .3400267

```

. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.il133cat2 illbetacat3 i.tnfalfacat
i.idadecatdummy  _Iidadecatd_1-4  (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2        _Iil10cat2_0-2  (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.il133cat2       _Iil133cat2_0-2  (naturally coded; _Iil133cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat     _Itnfalfaca_0-2  (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
note: _Itnfalfaca_1 != 0 predicts failure perfectly
      _Itnfalfaca_1 dropped and 5 obs not used

```

```

Logistic regression          Number of obs   =      167
                             LR chi2(10)        =      28.52
                             Prob > chi2        =      0.0015
Log likelihood = -75.303007   Pseudo R2      =      0.1592

```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
_Iidadecatd_2	.3803784	.2432107	-1.51	0.131	.1086337 1.331885
_Iidadecatd_3	1.546285	1.231641	0.55	0.584	.3245592 7.366905
_Iidadecatd_4	.6628204	.3392905	-0.80	0.422	.2430385 1.807659
opgcat4	.2984966	.2493272	-1.45	0.148	.0580698 1.534363
_Iil10cat2_1	7.190061	5.152737	2.75	0.006	1.764905 29.29165
_Iil10cat2_2	2.400551	1.861589	1.13	0.259	.5250707 10.97499
_Iil133cat2_1	2.029764	1.219039	1.18	0.239	.6255028 6.586606
_Iil133cat2_2	2.36542	1.18192	1.72	0.085	.8883661 6.298319
illbetacat3	2.201164	.9786763	1.77	0.076	.9208592 5.261525
_Itnfalfaca_1	1	(omitted)			
_Itnfalfaca_2	9.105749	7.392864	2.72	0.007	1.85453 44.70926
_cons	.1484921	.0707485	-4.00	0.000	.0583649 .3777939

```

. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.il10cat2 i.il133cat2 i.tnfalfacat
i.idadecatdummy  _Iidadecatd_1-4  (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.il10cat2        _Iil10cat2_0-2  (naturally coded; _Iil10cat2_0 omitted)
i.il133cat2       _Iil133cat2_0-2  (naturally coded; _Iil133cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat     _Itnfalfaca_0-2  (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
note: _Itnfalfaca_1 != 0 predicts failure perfectly
      _Itnfalfaca_1 dropped and 5 obs not used

```

```

Logistic regression          Number of obs   =      167
                             LR chi2(9)         =      25.33
                             Prob > chi2        =      0.0026
Log likelihood = -76.894629   Pseudo R2      =      0.1414

```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	.4000345	.2514634	-1.46	0.145	.1166886	1.371407
_Iidadecatd_3	1.587145	1.238267	0.59	0.554	.3439712	7.323375
_Iidadecatd_4	.6098682	.3072973	-0.98	0.326	.2271626	1.637326
_opgcat4	.3302219	.2696379	-1.36	0.175	.0666453	1.636222
_Ii110cat2_1	5.280201	3.595929	2.44	0.015	1.389838	20.06027
_Ii110cat2_2	2.70251	2.049326	1.31	0.190	.6113603	11.94641
_Ii133cat2_1	2.344035	1.37196	1.46	0.146	.7443155	7.381948
_Ii133cat2_2	2.210867	1.092656	1.61	0.108	.8392303	5.824303
_Itnfalfaca_1	1	(omitted)				
_Itnfalfaca_2	9.306715	7.618563	2.73	0.006	1.87066	46.3018
_cons	.2131364	.0877629	-3.75	0.000	.0950954	.4777006

```
. xi: logistic igeespeccat i.idadecatdummy opgcat4 i.i110cat2 i.tnfalfacat
i.idadecatdummy   _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
i.i110cat2         _Ii110cat2_0-2      (naturally coded; _Ii110cat2_0 omitted)
i.tnfalfacat      _Itnfalfaca_0-2      (naturally coded; _Itnfalfaca_0 omitted)
```

```
Logistic regression                Number of obs   =      191
                                   LR chi2(8)         =      24.80
                                   Prob > chi2        =      0.0017
Log likelihood = -93.038532        Pseudo R2      =      0.1176
```

igeespeccat	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
_Iidadecatd_2	.5348566	.2976523	-1.12	0.261	.1796952	1.591983
_Iidadecatd_3	2.955203	1.996872	1.60	0.109	.7859926	11.11108
_Iidadecatd_4	.6799722	.3019936	-0.87	0.385	.2847411	1.623799
_opgcat4	.2072639	.1662576	-1.96	0.050	.0430258	.9984318
_Ii110cat2_1	4.854945	3.015089	2.54	0.011	1.437337	16.39872
_Ii110cat2_2	2.320547	1.498462	1.30	0.192	.6545434	8.227013
_Itnfalfaca_1	1.493845	1.475711	0.41	0.685	.2154948	10.35558
_Itnfalfaca_2	6.665481	5.027225	2.52	0.012	1.519988	29.2296
_cons	.3082586	.1044309	-3.47	0.001	.1586894	.598801

## Análises – Capítulo 3

### Status de infecção por *S. mansoni*

```
. xi: logistic igeespeccatt12 i.idadecatdummy igetotalt12 eosinofilot12 il6catt12 il5catt12 ccl3catt12
pot12
i.idadecatdummy  _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5catt12 != 0 predicts success perfectly
      il5catt12 dropped and 1 obs not used
```

```
Logistic regression                               Number of obs   =       141
                                                  LR chi2(8)      =       17.85
                                                  Prob > chi2     =       0.0224
Log likelihood = -76.07704                       Pseudo R2      =       0.1050
```

```
-----+-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |  1.628525    .9505932     0.84   0.403    .5187236    5.11273
_Iidadecatd_3 |  4.440889    2.927703     2.26   0.024    1.21985    16.16715
_Iidadecatd_4 |  1.431224    .7364604     0.70   0.486    .5220448    3.923807
igetotalt12 |  1.000115    .0000608     1.89   0.059    .9999955    1.000234
eosinofilot12 |  1.000149    .0003752     0.40   0.692    .9994138    1.000885
  il6catt12 |  .6693734    .2868502    -0.94   0.349    .2890004    1.550381
  il5catt12 |           1 (omitted)
  ccl3catt12 |  .3579374    .1772258    -2.08   0.038    .1356285    .9446328
    pot12 |  .5060426    .2758331    -1.25   0.211    .1738662    1.472851
    _cons |  .3084205    .1456376    -2.49   0.013    .1222368    .7781879
-----+-----
```

```
. xi: logistic igeespeccatt12 i.idadecatdummy igetotalt12 eosinofilot12 il6catt12 il5catt12 ccl3catt12
negativos
i.idadecatdummy  _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5catt12 != 0 predicts success perfectly
      il5catt12 dropped and 1 obs not used
```

```
Logistic regression                               Number of obs   =       141
                                                  LR chi2(8)      =       19.06
                                                  Prob > chi2     =       0.0146
Log likelihood = -75.472721                       Pseudo R2      =       0.1121
```

```
-----+-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
_Iidadecatd_2 |  1.637585    .9629036     0.84   0.402    .517244    5.184564
_Iidadecatd_3 |  4.384737    2.89777     2.24   0.025    1.200617    16.01337
_Iidadecatd_4 |  1.511341    .7802062     0.80   0.424    .5494687    4.157019
igetotalt12 |  1.000104    .0000583     1.78   0.076    .9999893    1.000218
eosinofilot12 |  1.000174    .000391     0.45   0.656    .9994081    1.000941
  il6catt12 |  .6214969    .2619178    -1.13   0.259    .2720925    1.419585
  il5catt12 |           1 (omitted)
  ccl3catt12 |  .3655588    .1826748    -2.01   0.044    .1372777    .973452
  negativos |  .4983371    .2044431    -1.70   0.090    .2230064    1.1136
    _cons |  .4182566    .2177818    -1.67   0.094    .1507409    1.160525
-----+-----
```

```
. xi: logistic igeespeccatt12 i.idadecatdummy igetotalt12 eosinofilot12 il6catt12 il5catt12 ccl3catt12
curados
i.idadecatdummy  _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5catt12 != 0 predicts success perfectly
      il5catt12 dropped and 1 obs not used
```

```

Logistic regression                               Number of obs   =       141
                                                    LR chi2(8)      =       16.61
                                                    Prob > chi2     =       0.0344
Log likelihood = -76.695697                       Pseudo R2      =       0.0977

```

```

-----+-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
  _Iidadecatd_2 |   1.696454   .9833491     0.91   0.362     .5446822   5.283733
  _Iidadecatd_3 |   4.697175   3.077867     2.36   0.018     1.300407  16.96658
  _Iidadecatd_4 |   1.518901   .7753323     0.82   0.413     .5585066   4.130765
  igetotalt12  |   1.000088   .0000559     1.58   0.115     .9999786   1.000198
 eosinofilot12 |   1.000216   .0003787     0.57   0.568     .9994743   1.000959
   il6catt12   |   .5760499   .2415417    -1.32   0.188     .2532477   1.310312
   il5catt12   |           1   (omitted)
  ccl3catt12   |   .3700496   .1832333    -2.01   0.045     .1402103   .976652
   curados     |   1.310303   .543471     0.65   0.515     .5811943   2.954081
   _cons       |   .240346   .1266092    -2.71   0.007     .0855937   .6748883
-----+-----

```

```

. xi: logistic igeespeccatt12 i.iadecatdummy igetotalt12 eosinofilot12 il6catt12 il5catt12 ccl3catt12
reinfectedados
i.iadecatdummy  _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5catt12 != 0 predicts success perfectly
      il5catt12 dropped and 1 obs not used

```

```

Logistic regression                               Number of obs   =       141
                                                    LR chi2(8)      =       25.28
                                                    Prob > chi2     =       0.0014
Log likelihood = -72.360426                       Pseudo R2      =       0.1487

```

```

-----+-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
  _Iidadecatd_2 |   1.483661   .8872755     0.66   0.509     .4595042   4.790488
  _Iidadecatd_3 |   4.761004   3.237094     2.30   0.022     1.255888  18.04871
  _Iidadecatd_4 |   1.244533   .6530907     0.42   0.677     .4449622   3.480884
  igetotalt12  |   1.00016   .0000641     2.50   0.012     1.000035  1.000286
 eosinofilot12 |   1.000095   .0003791     0.25   0.803     .999352  1.000838
   il6catt12   |   .7952616   .3441921    -0.53   0.597     .340492  1.857433
   il5catt12   |           1   (omitted)
  ccl3catt12   |   .3517638   .1788283    -2.06   0.040     .1298736   .9527557
 reinfectedados |   .0916797   .091648     -2.39   0.017     .0129231   .6503995
   _cons       |   .3051107   .1435172    -2.52   0.012     .1213588   .767085
-----+-----

```

```

. xi: logistic igeespeccatt12 i.iadecatdummy igetotalt12 il6catt12 il5catt12 ccl3catt12 reinfectedados
i.iadecatdummy  _Iidadecatd_1-4      (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5catt12 != 0 predicts success perfectly
      il5catt12 dropped and 1 obs not used

```

```

Logistic regression                               Number of obs   =       156
                                                    LR chi2(7)      =       26.45
                                                    Prob > chi2     =       0.0004
Log likelihood = -79.578589                       Pseudo R2      =       0.1425

```

```

-----+-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|     [95% Conf. Interval]
-----+-----
  _Iidadecatd_2 |   1.603649   .9123395     0.83   0.406     .5258336   4.890693
  _Iidadecatd_3 |   4.114138   2.606448     2.23   0.026     1.188539  14.24113
  _Iidadecatd_4 |   .9872128   .4841769    -0.03   0.979     .3775203   2.581554
  igetotalt12  |   1.000161   .0000607     2.65   0.008     1.000042   1.00028

```

```

    il6catt12 | .9962403 .403861 -0.01 0.993 .4500903 2.205102
    il5catt12 | 1 (omitted)
    ccl3catt12 | .3222632 .1599764 -2.28 0.023 .1218039 .8526291
    reinfectados | .0805661 .078383 -2.59 0.010 .0119679 .5423612
    _cons | .3139872 .1291481 -2.82 0.005 .1402164 .703113
-----

```

```

. xi: logistic igeespeccatt12 i.idadecatdummy igetotalt12 il5catt12 ccl3catt12 reinfectados
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)
note: il5catt12 != 0 predicts success perfectly
      il5catt12 dropped and 1 obs not used

```

```

Logistic regression                               Number of obs   =       156
                                                  LR chi2(6)      =       26.45
                                                  Prob > chi2     =       0.0002
Log likelihood = -79.578632                    Pseudo R2      =       0.1425

```

```

-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
  _Iidadecatd_2 | 1.603129    .9103086     0.83  0.406    .526779   4.878747
  _Iidadecatd_3 | 4.11258    2.599935     2.24  0.025    1.191222  14.19829
  _Iidadecatd_4 | .9867582   .4814759    -0.03  0.978    .3792084  2.567695
  igetotalt12 | 1.000161   .0000606     2.66  0.008    1.000042  1.00028
  il5catt12 | 1 (omitted)
  ccl3catt12 | .322127    .1592352    -2.29  0.022    .1222525  .8487831
  reinfectados | .0804562   .0773834    -2.62  0.009    .0122143  .5299702
  _cons | .3136646   .1242674    -2.93  0.003    .1442903  .6818578
-----

```

```

. xi: logistic igeespeccatt12 i.idadecatdummy ccl3catt12 reinfectados
i.idadecatdummy _Iidadecatd_1-4 (naturally coded; _Iidadecatd_1 omitted)

```

```

Logistic regression                               Number of obs   =       159
                                                  LR chi2(5)      =       16.34
                                                  Prob > chi2     =       0.0059
Log likelihood = -86.56068                    Pseudo R2      =       0.0862

```

```

-----
igeespeccatt12 | Odds Ratio   Std. Err.      z    P>|z|    [95% Conf. Interval]
-----+-----
  _Iidadecatd_2 | 1.781882    .9511799     1.08  0.279    .6258961  5.072893
  _Iidadecatd_3 | 3.433132    2.077685     2.04  0.042    1.048467  11.24155
  _Iidadecatd_4 | 1.003312    .4676272     0.01  0.994    .402444   2.501307
  ccl3catt12 | .3659646   .1707448    -2.15  0.031    .1466566  .9132224
  reinfectados | .1695054   .1312329    -2.29  0.022    .0371684  .7730244
  _cons | .4616913   .1623636    -2.20  0.028    .2317439  .9198033
-----

```



## APÊNDICE 2 – ARTIGOS PUBLICADOS



# Modulation of Allergic Reactivity in Humans Is Dependent on *Schistosoma mansoni* Parasite Burden, Low Levels of IL-33 or TNF- $\alpha$ and High Levels of IL-10 in Serum

Samira D. Resende<sup>1</sup>, Fernanda C. Magalhães<sup>1</sup>, Jailza L. Rodrigues-Oliveira<sup>1</sup>, Vanessa N. Castro<sup>1</sup>, Carolina S. A. Souza<sup>2</sup>, Edward J. Oliveira<sup>2</sup>, Mariângela Carneiro<sup>1</sup>, Stefan M. Geiger<sup>1</sup> and Deborah A. Negrão-Corrêa<sup>1\*</sup>

### OPEN ACCESS

#### Edited by:

Michael Harrison Hsieh,  
Children's National Health System,  
United States

#### Reviewed by:

Fausto Edmundo Lima Pereira,  
Universidade Vila Velha, Brazil  
Audrey Romano,  
BILHI Genetics, France

#### \*Correspondence:

Deborah A. Negrão-Corrêa  
denegrac@icb.ufmg.br

#### Specialty section:

This article was submitted to  
Microbial Immunology,  
a section of the journal  
Frontiers in Immunology

**Received:** 06 September 2018

**Accepted:** 21 December 2018

**Published:** 18 January 2019

#### Citation:

Resende SD, Magalhães FC,  
Rodrigues-Oliveira JL, Castro VN,  
Souza CSA, Oliveira EJ, Carneiro M,  
Geiger SM and Negrão-Corrêa DA  
(2019) Modulation of Allergic  
Reactivity in Humans Is Dependent on  
*Schistosoma mansoni* Parasite  
Burden, Low Levels of IL-33 or TNF- $\alpha$

<sup>1</sup> Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil, <sup>2</sup> Schistosomiasis Laboratory, René Rachou Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Belo Horizonte, Brazil

Helminth infections and allergies are characterized by a predominant type-2 immune response. In schistosomiasis, the Th-2 response is usually accompanied by induction of immunoregulatory mechanisms that contribute to worm survival and less severe schistosomiasis. Although helminth-induced immunomodulatory mechanisms seem to affect atopy, epidemiological studies on the relationship between helminths and allergy have been inconsistent, and data suggest that the modulatory effects may be influenced by helminth species, chronicity of infection, and parasite burden. Here we performed a cross-sectional study to investigate the effects of *Schistosoma mansoni* parasite burden and immune response on allergic reactivity of individuals living in a schistosomiasis endemic area in Brazil. Fecal samples from the participants were collected for extensive parasitological examinations by spontaneous sedimentation, Kato-Katz, Helmintex and Saline Gradient tests and molecular detection of *S. mansoni* by qPCR. Additionally, the concentrations of cytokines and chemokines, total IgE and IgE-reactivity to common house dust allergens were quantified from serum samples. IgE reactivity to dust allergens was detected in 47 individuals (23.8%), and 140 individuals (54.4%) were diagnosed with *S. mansoni* infection. Most of the infected population (108 individuals) presented very low parasite burden ( $\leq 12$  eggs/g of feces). The frequency and intensity ( $p \leq 0.03$ ) of allergic reactivity were lower in *S. mansoni*-infected compared with non-infected individuals. Multivariable logistic regression models adjusted by age revealed that allergic reactivity was positively associated with low IL-10 response (OR, 4.55, 95% CI, 0.56–7.36) and high concentration of the inflammatory mediators IL-33 (OR,



# Systemic Cytokine and Chemokine Profiles in Individuals With *Schistosoma mansoni* Infection and Low Parasite Burden

Vanessa N. Castro<sup>1</sup>, Jailza L. Rodrigues<sup>1</sup>, Diogo T. Cardoso<sup>1</sup>, **Samira D. Resende<sup>1</sup>**, Fernanda C. Magalhães<sup>1</sup>, Dayane C. Souza<sup>1</sup>, Maira H. Requeijo<sup>2</sup>, Deborah Negrão-Corrêa<sup>1</sup> and Stefan M. Geiger<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil, <sup>2</sup> Faculdade da Saúde e Ecologia Humana (FASEH) Vespasiano, Belo Horizonte, Brazil

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Thiago Almeida Pereira,  
Stanford University, United States

### Reviewed by:

Emily McDonald,  
Brown University, United States  
Ricardo Ficco Oliveira,  
Instituto Gonçalo Moniz (IGM), Fiocruz  
Bahia, Brazil

### \*Correspondence:

Stefan M. Geiger  
stefan.geiger76@gmail.com

### Specialty section:

This article was submitted to  
Microbial Immunology,  
a section of the journal

Intestinal schistosomiasis, caused by the parasitic trematode *Schistosoma mansoni*, is a chronic disease and the prolonged and continuous exposure to *S. mansoni* antigens results in a deviation of the host's immune response. For diagnosis, the Kato-Katz (KK) method is recommended, however, this method showed low accuracy in areas of low endemicity. This study aimed to characterize the cytokine and chemokine profile of individuals with an extremely low parasite load (<4 eggs per gram of feces), e.g., individuals who were detected by alternative parasitological methods, such as the saline gradient and/or Helminex<sup>®</sup>. In order to search for immunological markers for infection, the immunological profile in serum samples of these individuals was then compared with patients detected with the KK method and with a higher parasite load and with individuals repetitively negative by extensive stool exams. The study was conducted in Northern Minas Gerais in a rural area of the Municipality of Januária. Serum samples of a total of 139 parasitologically well-characterized individuals were assessed for the following immunological markers by commercially available immunoassays: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, IL-5, IL-10, IL-13, IL-33, IL-27, CCL3, CCL5, CXCL10, CCL11, and CCL17. As a result there were no significant differences in concentrations or frequencies for



Parasitology

cambridge.org/par

## Research Article

**Cite this article:** Magalhães FdoC *et al.* (2020). Accuracy of real-time polymerase chain reaction to detect *Schistosoma mansoni* – infected individuals from an endemic area with low parasite loads. *Parasitology* 1–9. <https://doi.org/10.1017/S003118202000089X>

Received: 15 January 2020

Revised: 24 May 2020

Accepted: 26 May 2020

**Key words:**

Diagnosis; low parasite load; RT-PCR; *Schistosomiasis mansoni*

**Author for correspondence:**

Fernanda do Carmo Magalhães,  
E-mail: [nandademagalhaes@yahoo.com.br](mailto:nandademagalhaes@yahoo.com.br)

## Accuracy of real-time polymerase chain reaction to detect *Schistosoma mansoni* – infected individuals from an endemic area with low parasite loads

Fernanda do Carmo Magalhães<sup>1</sup> , Samira Diniz Resende<sup>1</sup>, Carolina Senra<sup>2</sup>, Carlos Graeff-Teixeira<sup>3</sup>, Martin Johannes Enk<sup>4</sup>, Paulo Marcos Zech Coelho<sup>5</sup>, Edward Oliveira<sup>2</sup>, Deborah Aparecida Negrão-Corrêa<sup>1</sup> , Stefan Michael Geiger<sup>1</sup> and Mariângela Carneiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>2</sup>Pesquisa Clínica e Políticas Públicas em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), 30190-002, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>3</sup>Núcleo de Doenças Infecciosas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil; <sup>4</sup>Secretaria de Vigilância em Saúde, Instituto Evandro Chagas, Ministério da Saúde, Belém, Brazil and <sup>5</sup>Diagnóstico e Terapia de Doenças Infecciosas e Oncológicas, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), 30190-002, Belo Horizonte, MG, Brazil

**Abstract**

Due to the efforts to control schistosomiasis transmission in tropical countries, a large proportion of individuals from endemic areas present low parasite loads, which hinders diagnosis of intestinal schistosomiasis by the Kato-Katz (KK) method. Therefore, the development of more sensitive diagnostic methods is essential for efficient control measures. The aim was to evaluate the accuracy of a real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) to detect *Schistosoma mansoni* DNA in fecal samples of individuals with low parasite loads. A cross-sectional population-based study was conducted in a rural community ( $n = 257$ ) in Brazil. POC-CCA\* was performed in urine and feces were used for RT-PCR. In addition, fecal exams were completed by 18 KK slides, saline gradient and Helminx techniques. The combined results of the three parasitological tests detected schistosome eggs in 118 participants (45.9%) and composed the consolidated reference standard (CRS). By RT-PCR, 117 out of 215 tested samples were positive, showing 91.4% sensitivity, 80.2% specificity and good concordance with the CRS ( $\kappa = 0.71$ ). RT-PCR identified 86.9% of the individuals eliminating less than 12 eggs/g of feces, demonstrating much better performance than POC-CCA\* (50.8%). Our results showed that RT-PCR is a valuable alternative for the diagnosis of intestinal schistosomiasis in individuals with very low parasite loads.

**Introduction**

Schistosomiasis is a serious public health problem affecting more than 240 million people worldwide, with another 700–800 million living in areas at risk of infection (Gryseels *et al.*, 2006; Steinmann *et al.*, 2006; Colley *et al.*, 2014). Given the chronic and debilitating character of the disease, the Global Burden of Disease Study estimated that schistosomiasis contributed to 3.51 million disability-adjusted life years (DALYs) in 2015 and led to 10.1 million deaths in 2016 (WHO, 2016; GBD, 2017). In Brazil, the most recent national survey on the prevalence of intestinal schistosomiasis and geohelminths (INPEG 2010–2015) showed that positivity rates for schistosomiasis ranged from 0.02% to 3.5%, with the highest positivity rates found in the southeast (3.5%) and the northeast (1.27%) of the Brazilian territory (Katz, 2018).

Decisions about individual treatment, morbidity studies, identification of communities at risk of infection, cure control and follow-up of control programs are actions that depend primarily on the accuracy of the diagnostic tests (Uttinger *et al.*, 2000; Amaral *et al.*, 2006). Therefore, the development of simple, low-cost, and sensitive diagnostic methods that can be used in population studies is of fundamental interest for control (Uttinger *et al.*, 2001; Enk *et al.*, 2008). The Kato-Katz (KK) technique is the parasitological method recommended



## APÊNDICE 3 – ARTIGOS EM COLABORAÇÃO



## Previous History of American Tegumentary Leishmaniasis Alters Susceptibility and Immune Response Against *Schistosoma mansoni* Infection in Humans

Guilherme Silva Miranda<sup>1,2</sup>, Samira Diniz Resende<sup>1</sup>, Diogo Tavares Cardoso<sup>3</sup>, Genil Mororó Araújo Camelo<sup>1</sup>, Jeferson Kelvin Alves Oliveira Silva<sup>1</sup>, Vanessa Normandio de Castro<sup>3</sup>, Stefan Michael Geiger<sup>3</sup>, Mariângela Carneiro<sup>4</sup> and Deborah Negrão-Corrêa<sup>1\*</sup>

## OPEN ACCESS

## Edited by:

Cristina Toscano Fonseca,  
Oswaldo Cruz Foundation  
(Fiocruz), Brazil

## Reviewed by:

Luciana Santos Cardoso,  
Federal University of Bahia, Brazil  
Andréa Teixeira-Carvalho,  
Oswaldo Cruz Foundation  
(Fiocruz), Brazil  
Rafael S. Erbst,  
Fluminense Federal University, Brazil

## \*Correspondence:

Deborah Negrão-Corrêa  
denegrcao@icb.ufmg.br

## Specialty section:

This article was submitted to  
Microbial Immunology,  
a section of the journal  
Frontiers in Immunology

Received: 18 November 2020

Accepted: 18 February 2021

Published: 11 March 2021

## Citation:

Miranda GS, Resende SD,  
Cardoso DT, Camelo GMA,  
Silva JKAO, Castro VN, Geiger SM,  
Carneiro M and Negrão-Corrêa D  
(2021) Previous History of American  
Tegumentary Leishmaniasis Alters  
Susceptibility and Immune Response  
Against *Schistosoma mansoni*  
Infection in Humans.  
*Front. Immunol.* 12:630934.  
doi: 10.3389/fimmu.2021.630934

<sup>1</sup>Laboratory of Immunohelminthology and Schistosomiasis, Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, <sup>2</sup>Laboratory of Biology, Department of Biology, Institute of Education, Science and Technology of Maranhão, São Raimundo das Mangabeiras, Brazil, <sup>3</sup>Laboratory of Intestinal Helminthiasis, Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, <sup>4</sup>Laboratory of Epidemiology of Infectious and Parasitic Diseases, Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

Schistosomiasis and Leishmaniasis are chronic parasitic diseases with high prevalence in some tropical regions and, due to their wide distribution, a risk of co-infections is present in some areas. Nevertheless, the impact of this interaction on human populations is still poorly understood. Thus, the current study evaluated the effect of previous American Tegumentary Leishmaniasis (ATL) on the susceptibility and immune response to *Schistosoma mansoni* infection in residents from a rural community in Northern of Minas Gerais state, Brazil, an area endemic for both parasitic infections. The participants answered a socioeconomic questionnaire and provided stool and blood samples for parasitological and immunological evaluations. Stool samples were examined by a combination of parasitological techniques to identify helminth infections, especially *S. mansoni* eggs. Blood samples were used for hemograms and to measure the serum levels of cytokines and chemokines. Reports on previous ATL were obtained through interviews, clinical evaluation forms, and medical records. *S. mansoni* infection was the most prevalent parasitic infection in the study population (46%), and the majority of the infected individuals had a very low parasite burden. In the same population, 93 individuals (36.2%) reported previous ATL, and the prevalence of *S. mansoni* infection among these individuals was significantly higher than among individuals with no ATL history. A multiple logistic regression model revealed that *S. mansoni* infection was positively associated with higher levels of CCL3 and CCL17, and a higher frequency of IL-17 responders. Moreover, this model demonstrated that individuals with an ATL history had a 2-fold higher probability to be infected with *S. mansoni* (OR = 2.0; 95% CI 1.04–3.68). Among *S. mansoni*-infected individuals, the logistic regression demonstrated that a previous ATL history was negatively associated with the frequency of IL-17 responders and CXC10



Contents lists available at ScienceDirect

Cytokine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/cytokine](http://www.elsevier.com/locate/cytokine)

## Eosinophils participate in modulation of liver immune response and tissue damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice

Vinicius Gustavo de Oliveira, Vanessa Fernandes Rodrigues, João Marcelo Peixoto Moreira, Jailza Lima Rodrigues, Laura Maggi, Samira Diniz Resende, Deborah Negrão-Corrêa\*

Department of Parasitology, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Eosinophils  
*Schistosoma mansoni*  
 Liver immune response  
 Granuloma  
 Fibrosis

### ABSTRACT

The severity of chronic schistosomiasis has been mainly associated with the intensity and extension of the inflammatory response induced by egg-secreted antigens in the host tissue, especially in the liver and intestine. During acute schistosomiasis, eosinophils account for approximately 50% of the cells that compose the liver granulomas; however, the role of this cell-type in the pathology of schistosomiasis remains controversial. In the current study, we compared the parasite burden and liver immunopathological changes during experimental schistosomiasis in wild-type (WT) BALB/c mice and BALB/c mice selectively deficient for the differentiation of eosinophils ( $\Delta$ dblGATA). Our data demonstrated that the absence of eosinophil differentiation did not alter the *S. mansoni* load or the liver retention of parasite eggs; however, there were significant changes in the liver immune response profile and tissue damage. *S. mansoni* infection in  $\Delta$ dblGATA mice resulted in significantly lower liver concentrations of IL-5, IL-13, IL-33, IL-17, IL-10, and TGF- $\beta$  and higher concentrations of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , as compared to WT mice. The changes in liver immune response observed in infected  $\Delta$ dblGATA mice were accompanied by lower collagen deposition, but higher liver damage and larger granulomas. Moreover, the absence of eosinophils resulted in a higher mortality rate in mice infected with a high parasite load. Therefore, the data indicated that eosinophils participate in the establishment and/or amplification of liver Th-2 and regulatory response induced by *S. mansoni*, which is necessary for the balance between liver damage and fibrosis, which in turn is essential for modulating disease severity.

### 1. Introduction

Schistosomiasis, a debilitating disease caused by a digenetic trematode of the genus *Schistosoma*, affects about 220 million people worldwide, and is transmitted in more than 70 countries in America, Asia, and Africa [1]. The vertebrate host becomes infected by active skin penetration of the cercariae; subsequently, the parasite larvae enter the venous blood vessels and are transported to the lungs, and then the hepatic portal system, where they mature into adult worms [2,3]. In the case of *Schistosoma mansoni* infection, the adult pairs migrate to the mesenteric veins to lay their eggs, and only about 40% of the eggs are able to pass through the blood vessel endothelium and the intestinal mucosa, to be shed in host feces [4]. The parasite eggs that are not eliminated in the feces are trapped in host tissues, mainly in the intestine and liver, inducing a granulomatous inflammatory response that has been found to be associated with disease severity [5,6].

Antigens released by tissue-trapped *Schistosoma* eggs induce a T-helper 2(Th-2) response that is associated with granuloma formation and liver fibrosis; interestingly, this response is also important to confine the cytotoxic effect of some of the egg-released antigens [7,8]. The liver granulomatous response in acute schistosomiasis is marked by a strong Th-2 response and intense cellular infiltration, composed mainly of CD4<sup>+</sup> T and B lymphocytes, fibroblasts, macrophages, and eosinophils, which can make up more than 50% of the infiltrated cells in the granuloma [9,10]. In contrast, chronic schistosomiasis is associated with the induction of immunological hyporesponsiveness, mediated mainly by Interleukin(IL)-10 and Tumor Growth Factor-beta (TGF- $\beta$ ) production, which modulates severe egg-induced pathology [11-13].

Eosinophils, the predominant cells in granuloma reactions during acute schistosomiasis, are recognized as highly plastic and multifunctional cells [14]. Eosinophils, as a tissue resident population, are essential for the organism's homeostasis, contributing to the control of

\* Corresponding author at: Departamento de Parasitologia Bloco Q3-sala 242, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brazil.

E-mail address: [deneagrao@icb.ufmg.br](mailto:deneagrao@icb.ufmg.br) (D. Negrão-Corrêa).

<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155701>

Received 17 April 2021; Received in revised form 16 August 2021; Accepted 2 September 2021

Available online 4 November 2021

1043-4666/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.