



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**IMUNOGLOBULINA E E EOSINÓFILOS EM CRIANÇAS DE ÁREA TROPICAL,
INFECTADAS POR *Ascaris lumbricoides***

EDNA MARQUES DE ARAÚJO SILVA

**NATAL/RN
2013**

EDNA MARQUES DE ARAÚJO SILVA

**IMUNOGLOBULINA E E EOSINÓFILOS EM CRIANÇAS DE ÁREA TROPICAL,
INFECTADAS POR *Ascaris lumbricoides***

Tese apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência
da Saúde da Universidade
Federal do Rio Grande do Norte
como requisito para a obtenção
do título de Doutor em Ciências
da Saúde

Orientador: Profa. Dra. Valéria Soraya de Farias Sales

NATAL/RN
2013

CATALOGAÇÃO NA FONTE
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

S586i

Silva, Edna Marques de Araújo.

Imunoglobulinas e eosinófilos em crianças de área tropical infectadas por *Ascaris lumbricoides* / Edna Marques de Araújo Silva. - Natal, 2013.

65f. : il.

Orientadora: Prof^a Dr^a Valéria Soraya de Farias Sales.

Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

1. *Ascaris lumbricoides* - Tese.
 2. Imunoglobulina E - Tese.
 3. Resposta Th2 - Tese.
 4. Imunidade adaptativa - Tese.
- Eosinófilos - Tese. I. Sales, Valéria Soraya de Faria. III. Título.

RN-UF/BS-CCS

CDU: 616-995.132(043.3)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenadora do Programa de pós-Graduação em Ciências da Saúde

Prof^a. Dr^a. Maria Ivonete de Araújo

EDNA MARQUES DE ARAÚJO SILVA

**IMUNOGLOBULINAS E EOSINÓFILOS EM CRIANÇAS DE ÁREA
TROPICAL NO BRASIL, INFECTADAS POR *Ascaris lumbricoides***

Aprovada em ____/____/____

Banca Examinadora:

Presidente da Banca: Prof.^a Dr.^a Valéria Soraya de Farias Sales-UFRN

Membros da Banca: Prof.^a Dr.^a Paula Renata Lima Machado-UFRN

Prof.^a Dr.^a Ana Claudia Galvão Freire Gouveia-UFRN

Prof.^a Dr.^a Francisca Inês de Sousa Freitas - UFPB

Prof.^a Dr.^a Zulma Maria de Medeiros - FIOCRUZ-PE

DEDICATÓRIA

A Deus, meus familiares e aos
meus amigos....

AGRADECIMENTOS

A DEUS por me dar forças, quando achei que não conseguiria concluir essa etapa da minha vida e colocou as pessoas certas nas horas certas para que eu prosseguisse na caminhada.

A minha família, em especial, meu marido e meus filhos, pela força, incentivo e apoio.

A professora Valéria, pela força, paciência, ensinamentos e em especial pela amizade que desabrochou nesses anos de convivência. MUITO OBRIGADA.

Aos colegas Tereza Neuma, Ana Claudia, Goretti, Luanda, Sara, Paula, Antonia Claudia, Melina e Geraldo, pela ajuda, incentivo e compreensão.

A DaLuz, funcionária do Laboratório de Parasitologia, pela colaboração em todos os momentos que precisei, pela sua disposição, seu carinho e amizade.

A Lucia e Erieneide do LIAC, pela colaboração nas coletas e realização de exames sanguíneos.

Aos diretores das Creches que participaram da pesquisa, pela colaboração e apoio na conscientização dos pais e alunos.

Ao laboratório de Alergia e Biologia Molecular do Departamento de Pediatria e Biologia Molecular da Faculdade de Ribeirão Preto - USP, em especial a Dra. Luiza Karla Arruda e Juliana Araújo pela colaboração e presteza dispensadas.

Ao Departamento de Análises Clínicas, na pessoa do chefe do Departamento Profa. Telma Maria A. M. Lemos pela colaboração e apoio.

Ao Programa de pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde pela ajuda financeira na compra de substâncias essenciais para o desenvolvimento do trabalho.

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

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Este trabalho objetivou estudar a imunoglobulina E total e específica para *A. lumbricoides* e eosinófilos em crianças de área endêmica, a fim de avaliar a resposta imune do tipo Th2 e relacionar os dados obtidos com a idade, sexo e intensidade da infecção numa população formada por 205 crianças com faixa etária de 1 a 10 anos, de ambos os sexos e baixo nível socioeconômico. Foram analisadas amostras fecais das crianças, pelos métodos de Blagg e Cols. e Kato-katz, determinadas as dosagens séricas de IgE total, IgE específica para *A. lumbricoides*, pelo método ImmunoCAP e realizada a contagem relativa de eosinófilos no sangue periférico. Os resultados revelaram uma ocorrência de 182 (88,8 %) para enteroparasitas, 168 (81,9%) para helmintos intestinais e 140 (68,3%) para *A. lumbricoides*. A mediana dos níveis séricos de IgE total e específica e o número de eosinófilos se apresentaram acima dos valores de referência padrão (mediana 480 kU/L, 0,74 kU/L e 8 %). Ocorreu uma diferença significativa nos níveis de IgE total, IgE específica e no número de eosinófilos entre as crianças parasitadas por *A. lumbricoides* e as não parasitadas ($p = 0,02$; $<0,01$; $< 0,03$), no entanto, estes, não apresentaram diferença significativa com a idade e sexos das crianças e intensidade da infecção. Houve uma correlação positiva entre os níveis de IgE total e IgE específica ($r = 0,55$). Concluímos, portanto, que a infecção por enteroparasitas, em especial para o *A. lumbricoides*, induziu uma resposta imune do tipo Th2 com produção de IgE total e específica e eosinófilos nas crianças infectadas.

Palavras Chaves: *Ascaris lumbricoides*, Imunoglobulina E, Imunidade adaptativa, Resposta Th2, Eosinófilos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------------------|--|
| <i>A.lumbricoides</i> | <i>Ascaris lumbricoides</i> |
| <i>A. hominis</i> | <i>Blastocystis hominis</i> |
| <i>C.mesneli</i> | <i>Chilomastix mesnili</i> |
| DTN | Doenças tropicais negligenciadas |
| <i>E. coli</i> | <i>Entamoeba coli</i> |
| <i>E. histolytica / dispar</i> | <i>Entamoeba histolytica / dispar</i> |
| <i>E. nana</i> | <i>Endolimax nana</i> |
| <i>E. vermicularis</i> | <i>Enterobius vermicularis</i> |
| EDTA | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| ELISA | “Enzime-Linked immunosorbent assay” |
| <i>G. lamblia</i> | <i>Giardia lamblia</i> |
| <i>H. nana</i> | <i>Hymenolepis nana</i> |
| HUOL | Hospital Universitário Onofre Lopes |
| <i>I. butschlii</i> | <i>Iodamoeba butschlii</i> |
| IgE | Imunoglobulina E |
| IgG | Imunoglobulina G |
| IgEAsc | Imunoglobulina específica para <i>A.</i> |
| IL | Interleucina |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| OPG | Ovos por grama de fezes |
| RR | Risco Relativo |
| <i>S. strongyloides</i> | <i>Strongyloides stercoralis</i> |
| Th1 | Resposta linfocitária do tipo 1 mediada |
| Th2 | Resposta linfocitária do tipo 2 mediada |

T. trichiura

UFRN

HTS

Trichiuris trichiura

Universidade Federal do Rio Grande

Helmintos solo transmissíveis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – IgE total em crianças que moram em uma área endêmica para parasitas intestinais.

Figura 2 - IgE específico para *A. lumbricoides* em crianças que moram em área endêmica para parasitas intestinais.

Figura 3 – Correlação entre IgE específica para *A. lumbricoides* e IgE total em crianças que moram em área endêmica para parasitas intestinais.

Figura 4 – Número de eosinófilos encontrado na população de crianças, que moram em área endêmica, segundo parasitas intestinais encontrado e a presença de IgE específica para *A. lumbricoides*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da população e o resultado das análises parasitológicas de acordo com faixas etárias em crianças de área endêmica.

Tabela 2 - Parâmetros imunológicos estudados de acordo com as características da população de 205 crianças de área endêmica.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| DEDICATÓRIA | |
| AGRADECIMENTOS | |
| RESUMO | |
| LISTA DE FIGURAS | |
| LISTA DE TABELAS | |
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1. Parasitas intestinais | 15 |
| 1.2. Respostas imunes nas infecções por helmintos | 17 |
| 1.2.1. Eosinófilos | 19 |
| 2. JUSTIFICATIVA | 21 |
| 3. OBJETIVOS | 22 |
| 3.1. Objetivo Geral | 22 |
| 3.2. Objetivos específicos | 22 |
| 4. MÉTODO | 23 |
| 4.1. População de estudo | 23 |
| 4.2. Considerações éticas | 23 |
| 4.3. Coleta e análises das amostras | 23 |
| 4.4. Coleta de sangue | 24 |
| 4.5. Determinação das imunoglobulinas E total e específica para <i>A. lumbricoides</i> (ABA 1) | 24 |
| 4.6. Eosinófilos | 24 |
| 4.7. Análises estatísticas | 25 |
| 5. ARTIGO PRODUZIDO | 26 |
| 6. COMENTÁRIOS CRÍTICAS E CONCLUSÕES | 59 |
| 7. REFERÊNCIAS | 64 |

| | | |
|---|----------|----|
| 8 | APÊNDICE | 74 |
| 9 | ANEXO | 75 |

1. INTRODUÇÃO

1.1. Parasitas intestinais

A alta prevalência de parasitas intestinais encontrada em seres humanos constitui agravo importante à saúde. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de dois bilhões de pessoas no mundo estão infectadas com uma ou mais espécie de parasito, a maioria dos quais residem em países em desenvolvimento e em áreas com condições de vida socioeconômica e precárias (1).

Os parasitas geohelminthos podem infectar os seres humanos em quase todas as regiões geográficas e climáticas, sendo as prevalências mais elevadas nos climas quente e úmido nas regiões tropicais e subtropicais (2). No Brasil as enteroparasitoses ocorrem nas diversas regiões do país, seja em zona rural ou urbana e em diferentes faixas etárias (3), estando fortemente correlacionadas com níveis socioeconômicos mais baixos e condições precárias de saneamento básico (4).

Entre os helmintos o *Ascaris lumbricoides* é o mais prevalente no ser humano, acometendo cerca de 1,2 bilhões de pessoas em todo o mundo (5) traduzindo em sérias consequências que são manifestadas em cerca de 122 milhões de caso/ano, sendo considerada como uma das doenças tropicais negligenciadas (DTN) (6).

Apesar da importância das infecções por enteroparasitas para a Saúde Pública, muito pouco se conhece sobre os detalhes de como estes interagem com seus hospedeiros, incluindo a natureza e eficácia das respostas imunes que são geradas (7).

As doenças infecciosas são adquiridas diretamente como resultado do comportamento e estilo de vida e a luta do organismo contra essas doenças que estão intimamente relacionadas ao nosso sistema imunológico. Acredita-se que o sistema imunológico humano evoluiu em resposta ao desafio de patógenos invasores (8).

Entre os agentes infecciosos, os parasitas helmintos são considerados os maiores manipuladores da resposta imune do hospedeiro e estão associados as infecções crônicas, geralmente assintomáticas. As infecções por helmintos induzem respostas Th2 (inata e adaptativas), por células do sistema imunológico (macrófagos, eosinófilos e linfóides), muito embora, vermes parasitas possam sobreviver em seus hospedeiros mamíferos, inibindo respostas imunitárias inflamatórias e induzindo, muitas vezes, tolerância a antígenos de parasitas (9-10). Entretanto, o mecanismo exato de como os vermes conseguem este efeito ainda não foi totalmente esclarecido (11).

A patologia na infecção por helmintos ocorre frequentemente em indivíduos que tem uma imunidade reduzida e, portanto, altamente susceptíveis à infecção com cargas muito elevadas de vermes. Mas também, pode ocorrer em indivíduos que são imunologicamente muito reativos, apesar de ter cargas baixas de vermes, neste caso, acredita-se que possa ter ocorrido um colapso entre o estabelecimento da resposta imune regulatória pelo hospedeiro e o parasita (12-13). A manutenção de um estado de tolerancia ou assintomático da doença requer uma relação regulatória imunológica adequada para cada série de helminto, o que é pouco provável de ocorrer em cada hospedeiro individualmente (14).

A infecção por helmintos pode produzir moduladores potentes da resposta inflamatória do hospedeiro que protegem esses parasitas contra a morte ou expulsão por parte do hospedeiro (15). Além da resposta Th2, células T reguladoras, células B e macrófagos ativados foram identificados como componentes-chave na regulação do funcionamento da rede imunológica durante infecções por helmintos (16).

Nas doenças infecciosas e parasitárias, a monitorização da resposta imune humoral ao agente etiológico constitui uma ferramenta valiosa para a compreensão dos mecanismos de controle dos parasitas, sobre o sistema imunológico do hospedeiro (17-20).

1.2. Respostas imunes nas infecções por helmintos

Os parasitas nematóides *Ascaris*, em particular, podem induzir a Imunoglobulina E nas respostas tipo Th2, o que tem sido foco de pesquisa para a

compreensão das respostas imunes ao parasita e também por estar diretamente ligada a reações alérgicas, especialmente na maioria dos países subdesenvolvidos localizados nos trópicos, onde as populações são naturalmente expostas a parasitas e outros alérgenos (21).

Entretanto, a função desta resposta imune humoral nas infecções por *A. lumbricoides* ainda é controversa e indefinida sendo discutido se a resposta a antígenos específicos do parasita confere um grau de proteção ao hospedeiro (22).

A resposta do tipo 2 provavelmente evoluiu ao proporcionar resistência ao organismo, limitar o número de helmintos que podem viver em nosso trato intestinal e para reparar os danos do tecido causados por helmintos que o colonizaram (16).

As evidências da imunidade nas respostas tipo Th2 do hospedeiro, nas infecções por helmintos intestinais, sugerem um papel crucial na redução da gravidade da doença após infecção na fase aguda (23). Ela está correlacionada com a produção das interleucinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13 e, conseqüentemente, com a elevação da imunoglobulina (IgE) e da eosinofilia (18). Entretanto, ainda não está claro como esta resposta é iniciada durante a infecção por helmintos, pois uma ampla variedade de mecanismos efetores são ativados por essas citocinas (11,13).

É oportuno destacar que a ação da IL-4 sobre a produção de IgE, bem como a atuação da IL-13 sobre os mastócitos, resultam em aumento de mediadores da inflamação, secreção de muco e aumento da contratilidade muscular intestinal, que podem contribuir na eliminação de helmintos (24-26). Todo esse processo induzido pela somatização de antígenos excretores e secretores das larvas pode conferir resistência nas reinfecções (21). No entanto, o mecanismo exato da expulsão dos parasitas ainda não está bem esclarecido, embora, acredite-se que ele ocorra pela indução da resposta Th2 ou pela criação de um ambiente inóspito (27).

Vários estudos ressaltam a importância dos anticorpos IgE na imunidade contra infecções por helmintos mas, ainda é questionado se o aumento da produção de IgE é resultado da imunidade humoral na defesa contra helmintos ou se é apenas um mecanismo de escape dos parasitas, desencadeado pela

hiperprodução de IL-4, resultando na produção policlonal e portanto não funcional da IgE (28-29).

Já está bem estabelecido que os mastócitos expressam o receptor Fc ϵ RI e que estes se ligam com alta afinidade com a porção Fc do anticorpo IgE. Os anticorpos IgE se ligam aos receptores destas células, reconhecendo antígenos multivalentes específicos, promovendo nos mastócitos um padrão característico de mudanças bioquímicas e morfológicas, coletivamente denominadas degranulação anafilática que resulta na liberação de um painel de mediadores biologicamente ativos (30).

A existência de uma associação entre os níveis elevados de IgE, e a elevada expressão de Fc ϵ R de superfície, em soro de crianças, tem sido relatada por alguns estudos como uma correlação positiva entre IgE ligada à célula e a expressão de Fc ϵ R em basófilos, células dendríticas e monócitos (23, 24).

Em alguns indivíduos, os anticorpos da classe IgE específica para certos alérgenos não promovem a degranulação dos mastócitos e várias hipóteses tem sido levantadas para explicar este fato como: i) A competição da IgE policlonal induzida pelo helminto para receptores dos mastócitos. (ii) A elevação da IgG4 e IgE nas infecções helmínticas; (iii) Indução de células T CD4+ CD25+ Foxp3+ que imunomodulam negativamente a imunidade mediada por IgE (31). A IgG4 e a IgE estão elevadas nas infecções helmínticas, no entanto, foi observado que a IgG4 pode atuar como um "anticorpo de bloqueio" na imunidade mediada por IgE devido à sua capacidade de competir com os epítomos idênticos para IgE (31).

Trabalhos têm relatado que estas reações estão fortemente influenciadas por fatores genéticos de ambos hospedeiros e parasitas e dessa forma, a resistência natural a parasita em populações, tem sido pesquisada através da genética, buscando o entendimento da evolução parasita-hospedeiro (32). Estudos sobre a resposta ao *A. lumbricoides* encontraram em populações de regiões tropicais numa área endêmica para este nematóide, que o polimorfismo de genes, (LIG4 - ligase IV), TNFSF13B (B cell activation factor) e *IRS2* (insulin receptor substrate-2), localizados na região 13q33–34 que normalmente é relatada para produção de anticorpo, está associado com a IgE total, IgE e IgG específica para *Ascaris* (33-35).

Destacando a ação dos helmintos como moduladores da resposta imune celular e humoral, foi demonstrado em alguns estudos que o extrato de *Ascaris suum* obtido a partir de vermes adultos é capaz de suprimir a resposta imune humoral e celular induzidas por antígenos heterólogos, como ovoalbumina (OVA) ou micobactéria (36-37).

Os vermes nematóides tem a capacidade de produzir proteínas que desencadeiam reações alérgicas, os NPAs (nematóides alérgenos poliproteicos) que podem ser prejudiciais ou, ao mesmo tempo, proteger contra as infecções por estes parasitas em humanos e outros animais (38). Duas dessas proteínas são conhecidas no *Ascaris*: Asc I (ABA-1 fatty acid binding protein (FABP), que tem aproximadamente 15 kDa e Tropomiosina (39). A proteína ABA-1 é encontrada abundantemente no fluido pseudocelômico dos parasitas e também nos tecidos das larvas e vermes adultos. (40). As tropomiosinas são proteínas envolvidas na contração de células musculares, em conjunto com a actina e miosina e em invertebrados, tem sido associadas com as respostas de anticorpos IgE (39) Também foi encontrada como uma importante proteína que induz a resposta de IgE em populações infectadas por *A.lumbricoides* (41).

1.2.1. Eosinófilos

Os eosinófilos são granulócitos que liberam mediadores pró-inflamatórios e podem expressar uma gama de citocinas e tem como principal função a exocitose da PBM (proteína básica principal), que é tóxica para parasitas causando a sua morte (42-43).

Nas parasitoses, o aumento dos eosinófilos é geralmente detectável no período pré-patente de parasitismo e os níveis séricos de IgE elevados ocorrem em tecidos com migrações de larvas ou alojamento de parasitas (44). Isto é, a sua detecção ocorre antes mesmo dos helmintos se transformarem em adultos e a ocorrência de formas biológicas detectáveis. Inicialmente os eosinófilos estão ligados aos linfócitos B, sob o comando de interleucinas Th-2 (IL-4 e IL-5) e a produção de IgE em resposta a exposição inicial a um antígeno ou alérgeno, cuja função é de destruir alguns helmintos através da citotoxicidade celular dependentes do anticorpo (45).

Behm e Ovington estudando as funções do eosinófilo nas infecções parasitárias relatam que sob a influência indireta das células Th2, os eosinófilos respondem entre outros, a sinais químicos atrativos, e levados pelos vasos sanguíneos ao local da inflamação ou sítios infectados por helmintos se tornam ativados e secretam citocinas pró-inflamatórias, lipídios e outros mediadores, degranulam para liberar produtos citotóxicos e fagocitam o material degradado. Estas células têm como função primária a defesa contra os organismos que são demasiado grandes para serem fagocitados, particularmente helmintos parasitas (46).

A identificação de fatores qualitativos e quantitativos que influenciam as respostas dos anticorpos anti-parasita em populações que moram em área endêmica é uma importante informação, que tem sido estudada em áreas diferentes, sugerindo que as respostas a esses anticorpos específicos podem estar envolvidas com a imunidade da infecção para aquele parasita naquela população (47).

A resposta imunológica provocada pela infecção por parasitas é complexa e múltipla, devido a grande diversidade metabólica desses seres. Acredita-se que os anticorpos IgE específicos atuam na exclusão dos parasitas do hospedeiro, enquanto que a produção de anticorpos IgE não específicos, durante a invasão do parasita esteja envolvida no sistema de evasão desses parasitas. Sendo, portanto importante esclarecer em um processo infeccioso, a produção de anticorpos IgE como resultados da infecção por parasitas e seu envolvimento no sistema de evasão desses parasitas.

2. JUSTIFICATIVA

Globalmente são estimados que dois bilhões de pessoas estejam infectadas com parasitas intestinais, especialmente em crianças vivendo em condições vulneráveis. No Nordeste do Brasil, apesar de alguns avanços nas últimas décadas, a elevada prevalência de parasitas intestinais continua a figurar entre as principais causas de morbidade e mortalidade. Contudo, mais do que a mortalidade resultante dessas doenças, importam pela frequência com que produzem déficits orgânicos, comprometendo o desenvolvimento normal das crianças e limitando a capacidade de trabalho dos adultos, gerando um exército de enfermos que pesam no orçamento familiar e do Estado. Muitas dessas parasitoses, geralmente benignas ou fáceis de curar, se tornam fatores determinantes de óbitos, dependendo das circunstâncias. Embora a patologia e morbidez, decorrente da infecção por enteroparasitas sejam bastantes significantes, os sintomas atribuíveis e os efeitos patogênicos diretamente envolvidos são, geralmente, moderados ou não detectados na maioria dos indivíduos, o que pode confundir o diagnóstico e contribuir para uma maior disseminação da infecção.

O helminto nematoide *Ascaris lumbricoides* é considerado pela OMS como o helminto mais comum em toda população humana e foi o parasita que apresentou maior prevalência entre a população de crianças estudada. A infecção por *Ascaris* não induz somente anticorpos específicos, mas também anticorpos IgE parasitas não específicos que, começam a se elevar na 1ª semana após a infecção, alcançando um pico após 2 semanas após a elevação do anticorpos IgE parasita-específico. Acredita-se que anticorpos IgE parasita-específico atuam na exclusão do parasita no organismo do hospedeiro, enquanto a produção de anticorpos IgE específico durante a invasão do parasita e está envolvido com o sistema de evasão destes parasitas. Todavia é importante esclarecer se a produção de anticorpos é resultado da infecção por parasitas e do sistema de evasão destes parasitas.

Considerando o grande interesse que há no reconhecimento do mecanismo imune contra os helmintos, em especial do *Ascaris lumbricoides* e, a grande controvérsia nos estudos já realizados, Este trabalho que se propôs

estudar a resposta imune do tipo Th2 (imunoglobulina E e eosinófilos) em uma população infantil, para assim contribuir na compreensão, dessa inter-relação afim de conter seus efeitos junto à população e favorecer para a mudança de uma realidade adversa, em que há comprometimento significativo da saúde pública, induzido por esta doença.

A resposta imunológica provocada pela infecção por parasitas é complexa e múltipla, devido à grande diversidade metabólica desses seres. Acredita-se que os anticorpos IgE específicos atuam na exclusão dos parasitas do hospedeiro, enquanto que a produção de anticorpos IgE não específico, durante a invasão do parasita e esteja envolvido no sistema de evasão desses parasitas. Sendo portanto, importante esclarecer em um processo infeccioso, a produção de anticorpos IgE como resultado da infecção por parasitas e seu envolvimento no sistema de evasão desses parasitas.

Grande parte dessas complicações poderia ser evitada se as investigações parasitológicas não fossem tão negligenciadas em nosso país. A escolha do tema dessa pesquisa teve como justificativa dois aspectos importantes, a gravidade que assumem as parasitoses intestinais na infância e o escasso estudo sobre a situação atual das enteroparasitoses, principalmente na região Nordeste.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a resposta imune do tipo Th2, por meio da imunoglobulina E total e específica para *A. lumbricoides* e eosinófilos em crianças de área endêmica e relacionar os dados obtidos com a idade, sexo e intensidade da infecção.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Identificar as infecções por parasitas intestinais na população do estudo.

3.2.2. Analisar os níveis séricos da IgE total e IgE específica nas crianças parasitadas com *A. lumbricoides* e outros enteroparasitas.

3.2.3. Relacionar a IgE total e IgE específica para *A. lumbricoides* nas crianças do estudo.

3.2.4. Avaliar a existência da relação entre os níveis de IgE total e IgE específica para *A. lumbricoides* e o sexo, idade e a carga parasitária (OPG) do *A. lumbricoides* na população do estudo.

3.2.5. Avaliar o número de eosinófilos no sangue periférico das crianças parasitadas por *A. lumbricoides*.

4. MÉTODO

4.1. População de estudo

O estudo foi conduzido na cidade de Natal, RN, situada na região tropical no Nordeste do Brasil, em uma população constituída por crianças de ambos os sexos. Estas crianças residiam na mesma área de região periférica e baixo nível socioeconômico e frequentavam creches públicas locais. Todas as crianças realizaram exame parasitológico de fezes (seriado de três amostras), exame de sangue (hemograma e dosagem sérica de IgE total e IgE específica) e não haviam recebido tratamento anti-helmíntico anteriormente, há mais de 6 meses.

4.2. Considerações éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob protocolo nº 057/2006 CEP-HUOL e iniciado após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos pais ou responsável legal.

4.3. Coleta e análise das amostras fecais

As amostras fecais **das 205 crianças** foram coletadas em formaldeído a 10% **em número de três amostras**, por três dias alternados e analisadas pela técnica de sedimentação de Blagg et al. (48). As amostras positivas para *Ascaris lumbricoides* foram avaliadas também pela técnica de Kato-Katz (49) (Kit Helm Teste - Fiocruz) em duplicata e determinado a média do número de ovos do parasita por grama de fezes (OPG). De acordo com a classificação da OMS (50), a intensidade da infecção por *A. lumbricoides* foi considerada leve (0 - 4,999 ovos/g fezes), moderada (5000 – 49,999 ovos/g fezes) e pesada (elevada) (= >50,000 ovos/g fezes). Todas as crianças com resultados do parasitológico positivo foram tratadas com mebendazol e/ou metronidazol, de acordo com a idade e o peso apresentado.

4.4. Coleta de sangue

As amostras do sangue periférico foram coletadas por punção venosa periférica em tubos Vacutainers (BD Ltd., UK), estando às crianças em jejum de 8 horas e sem uso de medicamento. Foram utilizados 2 tubos um com anticoagulante para a realização do hemograma e outro sem anticoagulante para obtenção do soro utilizado nas dosagens de IgE total e específica. As amostras foram processadas no Laboratório Integrado de Análises Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (LIAC) para realização do hemograma, em analisador hematológico automatizado (ABX Micros 60) . O soro foi obtido por centrifugação, aliqotado e estocado a -20°C para ser utilizado na determinação das imunoglobulinas.

4.5. Determinação de Imunoglobulinas E total e específica para *A. lumbricoides* (ABA-1)

Os níveis séricos de IgE total e IgE específica para *A. lumbricoides* (IgEAsc) utilizando o antígeno recombinante ABA-1, foram determinados pelo método de imunoenzimafluorimetria (ImmunoCAP-Phadia, Brasil)) de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de IgE total no soro (kU/L), foi relacionada com a idade e os valores de referência de acordo com o fabricante são: 1ano até 3,2 kU/L; 2 anos até 5,7 kU/L; 3 anos até 8,0 kU/L; 4 anos até 10 kU/L; 5 anos até 12 kU/L; 6 anos até 14 kU/L; 7 anos até 16 kU/L; 8 anos até 18 kU/L; 9 anos até 20 kU/L; ≥ 10 anos 22 kU/L quando atinge valores que se mantêm durante toda a vida adulta. Os soros com níveis de IgE superiores a 100 kU/L foram diluídos e posteriormente testados para obter valores precisos em alta titulação de anticorpos IgE.

Na dosagem de IgEAsc foi considerado o cut-off de 0,35 kU/L e classificado os níveis de IgE específica como, baixo (0,35 - 0,7 KU/L); moderado (> 0,7 - 3,5 kU/L); elevado (> 3,5 -17,5 kU/L) e muito elevado (> 17,5 kU/L).

4.6 Eosinófilos

A contagem diferencial das células (eosinófilos) foi determinada utilizando-se esfregaço sanguíneo, corado pelo Leishmann, após contagem de 100 leucócitos em microscópio óptico. Foi definido como critério para a eosinofilia em crianças, valores acima de 4% (51).

4.7. Análises estatísticas

Para todos os testes realizados neste estudo utilizou-se um nível de significância de 5%. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi aplicado na comparação entre as medianas das variáveis clínicas de duas ou mais amostras das categorias. O teste do Qui-quadrado foi aplicado para encontrar associação entre grupos analisados, como faixa etária e prevalência do *A. lumbricoides*. A relação entre as respostas de anticorpos IgE específicos e IgE total foi avaliada pela correlação de Pearson. A contribuição dos níveis de anticorpos IgE específicos para IgE total foi estimada em um modelo ajustado de regressão do logaritmo. O banco de dados foi construído em formato xlsx, e para construção de tabelas, gráficos e testes estatísticos utilizou-se Excel 2010 e os softwares estatísticos SPSS, versão 20.0 e R.

Além disso, foi calculado o risco relativo (RR) para a eosinofilia entre as crianças parasitadas (exposto) e não parasitadas (não exposto) e entre aquelas com níveis de IgEAsc acima de 0,35 kU/L, relativos às infecções por protozoários, helmintos e *A. lumbricoides*, por meio de uma tabela 2 X 2, seguindo os modelos propostos por Pereira (52). Para RR menor que 1: a associação teria uma ação protetora; RR igual a 1: ausência de associação e maior que 1: a associação sugere fator de risco.

5. ARTIGO PRODUZIDO

O artigo intitulado, **Total IgE, specific IgE and eosinophils in children tropical area in Brazil, infected with *Ascaris lumbricoides***, foi submetido em 26 de julho de 2013 no periódico **Microbes and Infection** ISSN: **1769-714X** que possui fator de impacto: **3.1 Qualis A2** da CAPES para área **Medicina II**.

From: **Microbes and Infection** <microbes@pasteur.fr>
Date: 2013/7/30
Subject: Editor handles MICINF-D-13-00228
To: vsales10@gmail.com

Ms. Ref. No.: MICINF-D-13-00228
Title: Total IgE, specific IgE and eosinophils in children tropical area in Brazil, infected with *Ascaris lumbricoides*
Microbes and Infection

Dear Valéria Sales,
Your submission "Total IgE, specific IgE and eosinophils in children tropical area in Brazil, infected with *Ascaris lumbricoides*" will be handled by Editorial Coordinator Geraldine Camus.

You may check the progress of your paper by logging into the Elsevier Editorial System as an author at <http://ees.elsevier.com/micinf/>.

Your username is: Valéria Sales If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/micinf/automail_query.asp

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System Microbes and Infection

Total IgE, specific IgE and eosinophils in children tropical area in Brazil, infected with *Ascaris lumbricoides*

SILVA, E.M.A.¹; SILVA, V.M.A.¹; SOUZA L. B. F. C.¹; BRITO, T N S.¹; MEDEIROS, S. D. V.¹; CAVALCANTE JÚNIOR, G. B.¹; ARRUDA L. K. P.²; SALES, V. S. F.¹

¹Clinic Analysis and Toxicology Department, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, 59012-570 Brazil

²Department of Clinical Medicine, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto-SP, Brazil.

ABSTRACT

This study investigated the relationship between total IgE, specific IgE to *A. lumbricoides* and eosinophils in children from [parasite](#) endemic area to assess the Th2 immune response in this population and relate with the age, sex, and intensity of infection. We analyzed fecal samples of the 205 children of both sexes, aged 1-10 years, by the methods of Blagg and Kato-katz, serum levels of total IgE and specific IgE by ImmunoCAP and the eosinophils count in peripheral blood. The results showed a prevalence of 182 (88.8%) for intestinal parasites, and 140 (68.3%) *A. lumbricoides*. Serum total and specific IgE and eosinophils presented values above those of standard reference (median 480 kU/L, 0,74 kU/L and 8%). There was a significant difference between the levels of total IgE, specific IgE, and eosinophils among children parasitized by *A. lumbricoides* and those non-

parasitized ($p = 0.02, <0.01, 0.03$). There was a positive correlation between the levels of total IgE and specific IgE ($r = .55$). Total IgE and specific IgE did not bear any significant relationships with the age and sex of children. We observed a rising tendency in IgE levels by increasing the parasitic load of *A. lumbricoides*. We therefore concluded that the infection to *A. lumbricoides*, induced a Th2 immune response with production of the total and specific IgE and eosinophils in infected children.

Key Words: *Ascaris lumbricoides*, IgE, Immune Response, Eosinophils Th2, immunity.

1. Introduction

The high prevalence of intestinal parasites found in human beings is a major health problem. The World Health Organization (WHO) estimates that more than two billion people worldwide most of whom live in developing countries and areas with poor hygiene are infected with at least one species of parasite. Among the helminths, *Ascaris lumbricoides* is the most prevalent in humans, affecting approximately 1.2 billion people worldwide leading to serious consequences manifested in about 122 million cases/year such as ascariasis, considered a Neglected Tropical Diseases (NTD) (1,2,3).

Th2 responses have consistently been associated with natural resistance to infection or re-infection in a number of different human helminthiases (4). This response is correlated with the production of interleukin IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, and IL-13 and thus with the increase in immunoglobulin (IgE), eosinophils and mastcell

(5). However, it is not clear how this response is initiated during helminth infections due to a variety of effectors mechanisms that are activated by these cytokines (6-7).

The identification of qualitative and quantitative factors that influence the responses of anti-parasites antibody in populations living in endemic areas is important information, which has been studied in different areas, suggesting that these specific antibodies may be involved in immunity for such parasite infection in that population (8,9). Therefore, we chose to evaluate the Th2 immune response (total IgE, specific IgE and eosinophils) in a population of children from an endemic area for *A. lumbricoides* in Northeast Brazil.

2. Methods

2.1. Patients

The study was conducted in the city of Natal, RN, located in a tropical area at the Northeast of Brazil, in a population consisting of children of both sexes. These children were living in the same periferic, had low socioeconomic status, and attended public kindergartens. The parasitological analysis (series of three samples), as well as the blood collection (blood count and serum total IgE and specific IgE), were performed with children who had not receive anthelmintic treatment within the previous six months.

2.2. Collection and analysis of fecal samples

Fecal samples were collected in 10% formaldehyde for three alternate days and analyzed by sedimentation of Blagg et al. (8). Samples positives for *A. lumbricoides* were also evaluated by the Kato-Katz method (9) in duplicate and the average number of parasite eggs per gram of feces (EPG) was determined. The intensity of infection by *A. lumbricoides* was defined according to the WHO (10) classification: light (0 to 4.999 eggs /g faeces), moderate (5.000 to 49.999 eggs / g faeces) and heavy (=> 50.000 eggs /g faeces). All children with positive parasitological results were treated with mebendazole and /or metronidazole according to weight and age of individual subjects.

2.3. Blood collection

The peripheral blood samples were collected and processed in the Laboratory of Integrated Clinical Analysis, Federal University of Rio Grande do Norte, to determine the blood count in the automated hematology analyzer (ABX Micros 60). Serum was obtained by centrifugation, aliquoted, and stored at -20 ° C for use in the determination of immunoglobulins.

2.4. Determination of total and specific IgE *A. lumbricoides* (ABA-1)

Total IgE and specific IgE to *A. lumbricoides* were quantitated by ImmunoCAP (Phadia, Brazil).according to the manufacturer's instructions.The concentration of total IgE (kU/L) serum was correlated with age. The reference value of total IgE by age, according to the manufacturer, complies with following: 1 year up to 3.2 kU/L; 2 years up to 5.7 kU/L; 3 years up to 8.0 kU/L; 4 years up to 10 kU/L; 5 years up to

12 kU/L; 6 years up to 14 kU/L; 7 years up to 16 kU/L; 8 years up to 18 kU/L; 9 years up to 20 kU/L; and 10 years up to 22 kU/L, when it reaches values that remain throughout adulthood. The serum IgE levels greater than 100 kU/L were diluted and then tested to obtain accurate values for high titration of IgE antibodies. In dosage IgEAsc, levels of specific IgE were classified as low (0.35 to 0.7 kU/L), moderate (0.7 to 3.5 kU/L); high (3.5 to 17.5 kU/L), and very high (> 17.5 kU/L).

2.5. Eosinophils

The differential cell count (eosinophils) was determined using blood smears stained by Leishmann after counting 100 leukocytes in an optical microscope. An eosinophil count above 4% was set as the criterion for eosinophilia in children (11).

2.6. Statistical analysis

All tests performed in this study used a significance level of .05. The nonparametric Kruskal-Wallis test was used to compare the medians of clinical samples from two or more of the categories. The chi-square test was applied to find association between the analyzed groups, such as age and prevalence of *A. lumbricoides*. The relationship between specific IgE and total IgE antibody responses was assessed by Pearson correlation. The contribution of antibody levels of IgE specific for total IgE was estimated in a regression model using an adjusted logarithm. The database was built in xlsx format, and tables, graphs, and

statistical tests were constructed using Excel 2010 and statistical software SPSS, version 20.0, and R.

Furthermore, we calculated the relative risk (RR) for eosinophilia in parasitized children (exposed) and those non-parasitized (unexposed) and among those with levels above IgEAsc 0.35 kU/L for infection by protozoa, helminths, and *A. lumbricoides*, by means of a 2 x 2 table, following the models proposed by Pereira (12). For RR less than 1, the association would have a protective action; for RR equal to 1, there would be a lack of association; and for RR greater than 1, the association would suggest a risk factor.

3. Results

3.1. Characteristics of the population

The basic characteristics of the study population, classified by age, sex, and the results of coproparasite analysis are shown in Table 1. The study population consisted of 205 children, 90 (43.9%) females and 115 (56.1%) males, aged 1-10 years (median 4), classified into 3 age groups 1-3, 4-6, and 7-10. Of all children, 182 (88,8%) were positive to one or more intestinal parasitic species, with an average of 2.7 parasites per child. Among the positive, 92.3% (n = 168) were infected with helminths, 75.8% (n = 138) with protozoa, 22.0% (n = 40) with a parasite, and 78% (n = 142) with more than one species.

Among the intestinal parasites found, the helminth *A. lumbricoides* was the most common with 140 (76.9%) infected children; 23 (16.4%) of whom were only

A. lumbricoides and 117 (83.6%) were co-infected patients, most frequently with *Trichiuris trichiura* (31.1%) and *Giardia lamblia* (44.2%).

The results showed that the group 4-6 years and males were the most infected, with prevalence of *A. lumbricoides*. According to the parasite load of *A. lumbricoides*, the intensity of infection in the population showed a median EPG 4152, (range, 24 to 74740 EPG) consisting of 54.2% of the population with a light load, 42.1% with a moderate load, and 3.5% with a heavy load.

3.2. Total IgE and specific IgE to *A. lumbricoides*

The total IgE levels were elevated in 100% (205) of the study population, with a median of 480 kU/L (range, 10.9 kU/L to 22540 kU/L). In 103 (75%) children infected with *A. lumbricoides*, total IgE levels were above the median, and seven of these children had levels of more than 5000 kU/L.

A statistically significant difference was shown between total IgE levels of children parasitized (median, 541 kU/L; range, 11 kU/L to 22540 kU/L;) and those non-parasitized (median, 143 kU/L; range, 10 kU/L to 2204 kU/L), ($p < 0.01$).

Positive children for *A. lumbricoides* (median, 565 kU/L; range, 11 kU/L to 22540 kU/L) had a significantly higher total IgE compared with those who had other parasites (median, 321 kU/L; range 20,1 kU/L to 7288 kU/L) and those not parasitized ($p = 0.02$). However, when these were parasitized exclusively by *A. lumbricoides* (median, 462 kU/L; range, 11, 8 kU/L to 2540 kU/L) no significant difference was found between the group of children who were parasitized with other intestinal parasites, but a difference was found between the group of children who were not parasitized ($p < 0.01$) (Fig. 1).

The group of children parasitized exclusively with *A. lumbricoides* showed total IgE levels significantly different from those with only other helminths (median, 233 kU/L; range, 36.2 kU/L to 4032 kU/L) or only protozoa (median, 271 kU/L; range, 20.1 kU/L to 7288 kU/L) ($p < 0.01$). (Fig 1). There was also a significant difference in total IgE among those with only protozoa and those with only other helminths ($p < 0.01$), with the group of non-parasitized ($p < 0.01$).

Of the 166 with detectable levels of IgEAsc, 130 had levels above the cut off (0,35 kU / L), and 7 (5.4%) of these children were not parasitized, 94 (72.3%) were parasitized by *A. lumbricoides*, and 29 (22.3%) by other intestinal parasites.

Regarding the classification levels of IgEAsc, of the 130 children 27 (20.7%) had low levels, 60 (46.3%) moderate, 30 (23%) high, and 13 (10%) very high.

IgEAsc levels were statistically higher among children parasitized (median, 1.8 kU/L; range 0.2 kU/L to 101 kU/L) compared with non-parasitized (median, 0.5 kU/L; range, 0.13 kU/L to 5 kU/L) ($p = 0.03$). Among those who were parasitized with *A. lumbricoides* (median, 1.8 kU/L; range, 0.12 kU/L to 101 kU/L), IgEAsc levels were significantly higher compared with the levels of those parasitized by other parasites (median, 1.4 kU/L; range, 0.13 kU/L to 46 kU/L) and the non-parasitized ($p = 0.01$) (Fig. 2).

The group of children exclusively parasitized by *A. lumbricoides* (median, 2.6 kU/L; range, 0.14 kU/L to 66 kU/L) had higher levels of IgEAsc than children with other intestinal parasites and not parasitized, but only a statistical difference with the last group ($p = 0.04$). This group of children exclusively with *A. lumbricoides* also showed no significant difference when compared with the group that had only other helminths or protozoa (Fig. 2).

Among the 130 children in the study population who had IgEAsc over 0.35 kU/L, the total IgE was above 45 kU/L, and 124 (95.3%) of them were parasitized, 94 (72.3%) *A. lumbricoides* positive, 30(23%) other intestinal parasites (predominantly *T. trichiura* and *G. lamblia*), and 6 (4.7%) were absent.

Of the 43 children with IgEAsc levels classified as high and very high, 41 (31.5%) had total IgE levels above 250 kU/L, and of these, 31 (23.8%) were positive for *A. lumbricoides*.

A significant correlation was found between the levels of specific IgEAsc and total IgE using the adjusted model regression of the log, showing that IgEAsc bonds were significantly associated with total IgE, and that explains 30% of the total IgE level in the population (Fig. 3).

According to the age groups of children, total IgE levels were higher with increasing age, so that children aged 7 to 10 years had the highest levels (median 620 kU/L) compared with children aged 4 to 6 years (median 488 kU/L) and those 1 to 3 years of age (median, 368 kU/L). However, there were no statistically significant differences between the 3 groups. There was also no difference in the levels of total IgE between genders, but males had a median (546 kU/L) higher than that of females (398 kU/L) (Table 2).

In all age groups, more than 50% of the children had high IgEAsc antibody levels; in the ranges of 1 to 3 and 4 to 6 years of age, the median IgEAsc (median for both, 1.7 kU/L) was higher than the median for children aged 7-10 years (1.3 kU/L). However, no statistically significant difference was found between the 3 groups. Regarding gender, there was also no statistically significant difference for IgEAsc, although males had a higher median (1.8 kU/L) compared with females (1.6 kU/L) (Table 2).

Regarding the intensity of infection (median / EPG), it was observed that total IgE levels were higher among children with heavy parasite burden compared to those presenting a moderate load and those with a light load. However, statistically, there was no significant difference between them.

For levels of IgEAsc, a remarkable difference was found between children with a heavy load to those who had a light or moderate parasite load, however there was no statistically significant difference between them. It was observed that for over 50% of the children with a light parasite load, moderate and high antibody levels were above 0.35 kU/L. For IgEAsc a positive correlation between parasite intensity of *Ascaris* infection and IgEAsc levels ($r = 0.203$, $p = 0,01$).

3.3. Eosinophils

The number of peripheral eosinophils in the population had a median of 9% (range, 0 to 40%) and eosinophilia (> 4%) was observed in 135 (65.9%) children. Of these, 125 (92.6%) were parasitized with intestinal protozoa and helminths, and 97 (71.8%) were positive for *A. lumbricoides*.

According to the age groups of the population, the number of eosinophils was higher among children 1-3 years old (median 8%) and 5-6 years old (median 7.5%) compared with the children 7 to 10 years of age (median 5 %). However, no difference was statistically significant for eosinophils, among the groups. Similar results were found between the genders (Table 2).

In accordance with the parasite load of the population, eosinophils showed similar medians for children with light and moderate parasite load (median 9.0%)

and increased in those with high parasite load (median 11.0%), but were not statistically significant (Table 2).

Among children who were parasitized and not parasitized, the number of eosinophils showed a statistically significant difference ($p = .002$). The percentage of eosinophils for those parasitized with *A. lumbricoides* was significantly higher (median 9%) than that for those parasitized with other intestinal parasites (median 6%) and for the non-parasitized ($p = 0.01$).

Significant results were also observed for those who were not infected with *A. lumbricoides* (median, 5.0%; range, 0 to 23 %) and the non-parasitized ($p < 0.01$) (Fig. 4).

Among children who had eosinophilia, 94 (69.6%) had levels above IgEAsc 0.35 kU/L, evidenced by the chi-square significant association ($p = 0.02$) between the classification of eosinophils ($>0.4\%$ and $\leq 4\%$) and IgEAsc levels (> 0.35 kU/L and ≤ 0.35 kU/L) ($p = 0.02$).

The values obtained in the calculation of the relative risk for children eosinophilia were: with helminthiasis 2.3; with protozoa, 0.3 and with ascariasis was 1.2. Based on the parameters, the elevation of IgE the relative risk to eosinophilia for helminthiasis was $RR=1.3$; in protozoa $RR= 0.5$ and showed the factor associated with eosinophilia, in ascariasis ($RR = 1.1$)

4. Discussion

Responses were analyzed for total IgE specific IgEAsc and for the presence of eosinophilia in a children population that resides in an endemic area in Natal, Northeast Brazil.

As indicated by most investigations in northeastern Brazil, the STH (soil transmitted helminths) parasites are more prevalent in these regions (13-17), and the results of this study were not different in that respect. The most prevalent parasite found was *A. lumbricoides*, although the prevalence of protozoa has also been shown to be elevated, as seen in Table 1.

Based on the characteristics of the transmission cycle of this nematode, it is possible that children who are economically underprivileged and more exposed to contact with the contaminated soil are more susceptible to the consequences of *A. lumbricoides* or other helminths. Despite living in an urban environment, many are living in limited sanitary conditions where exposure to *Ascaris* will occur early in life (18).

Helminths are unable to replicate within the host human (other than *Strongyloides stercoralis*) and, therefore, endemic communities with prolonged and repeated exposure to the worm allows the establishment of a substantial parasitic load (19).

However, the mechanisms of the host-parasite relationship in infections with *A. lumbricoides* and other helminths are not yet well understood in human populations (20) and may vary according to the intensity of infection (21).

Immunologically, it is believed that chronic helminth infections are characterized by maintaining regulatory mechanisms of Th1 and Th2 cells as a strategy to modulate the host immune responses against the parasite, thereby maintaining a beneficial environment that enables them to survive and avoid long-term inflammatory harm to the host (22).

Although it has been described in the literature that positive serologic tests are more frequent in identifying the intensity of infection than the detection of eggs

in feces, studies have shown that the identification of parasites eggs in fecal samples seems to be more specific (23-24). In this context, the intensity of the infection in this study was classified according to the parasitic load (EPG) using the classification of WHO. It was found that the parasitic load for *A. lumbricoides* in the population presented a very wide range, indicating that the intensity of the infection in the population is very heterogeneous (24 to 74,000 EPG). This variation may result from the endemic environment in which these children live and the age group with children who are still infected early in life and individual immunity.

Total IgE levels were very high at 100% of the population, while levels for IgEAsc above the cut off were seen in 63.4% of the population. These data can be attributed to the high degree of exposure to infection by intestinal parasites to which children were exposed.

In accordance with Cooper et al., people living in endemic areas for helminth infections tend to have very high levels of polyclonal IgE due to constant exposure to those parasites. This can lead to chronic infections since these parasites are potent inducers of polyclonal IgE and suggests that the elevated levels of IgE polyclonal are a defense mechanism against the effects of helminth parasite IgE antibodies (19).

Other studies agree that the stimulation of the Th2 response, it is likely that better represents the total IgE infected by several species of helminths. As specific IgE, a total IgE level is elevated in infected individuals and has been observed an association between repeated anthelmintic treatments and significant reductions in levels of IgE (25-26).

In agreement with this study, among this population there also existed a strong correlation between the levels of total IgE and specific IgE and both showed elevated levels in children who were parasitized.

Within the populations living in endemic areas, children are often more intensely infected. Resistance to infections has been described as dependent on factors such as age, gender, intensity of infection, and immune responses of the population (27).

In this study, although the levels of total IgE (median) did not show a statistically significant difference among age groups, there was an increase in the median line with the increase of age, which shows the performance of the immune system but not enough that one significant difference occurred.

Furthermore, no statistically significant difference was found between age and median levels of IgEAsc. However, it should be noted that although we did not find a statistically significant difference between infection intensity and IgEAsc levels, results showed that for children with a heavy parasite load, the immunoglobulin levels were higher, and we found a positive correlation between IgEAsc and the parasite load. A study of children aged 5-11 years in Venezuela found similar results for IgEAsc (26).

King et al. reported that immune responses and infection intensity are partly dependent and may affect the correlation between the responses and the infection intensity with increasing age in young children, since it would be expected that these correlations were positive (28) .

Blackwell et al. studying the age-patterning of IgE levels in three populations, found that in populations with higher transmission rates of parasites,

exposure triggers an elevation of IgE at earlier ages. However, this pattern may vary with the intensity and prevalence of infection (29).

In endemic populations, the most prevalent period occurs at a younger age, and it is believed that the peak intensity of infection tends to be earlier, which also leads to a partial acquisition of previously acquired immunity, leading to a decrease in prevalence after the peak (19, 29-30). In study, this difference was not so evident, probably due to the age of the study population consisting of children with 1-10 years.

Increasing intensity was observed according to the results of total IgE, as described. The presence of high levels of IgEAsc antibodies in the population reflects a partial immunity to infection. This could explain the correlation found in this study between parasite burden (EPG) and the levels of specific IgE in children parasitized by *A. lumbricoides* and corroborate other studies that found similar results (31-32).

The levels of total IgE and IgEAsc were higher in children infected with *A. lumbricoides* compared with those without the parasite. Regardless of the extremely high levels of total IgE, most of these children in the study had the ability to produce detectable levels of IgEAsc 166 (80,1%), but only 130(63.4%) were able to form an effective response to this parasite, or above the cut-off value (0.35 kU/L)

The prevalence of intestinal parasites was similar between both groups of children with high and low responses of IgEAsc, indicating that the risk of exposure was similar for parasites. However, the intensity of the infection to *A. lumbricoides* was significantly higher in children with higher levels of IgEAsc, suggesting that the ability to establish an efficient response to IgEAsc may be an advantage that

provides a better mechanism against the helminth's infections, especially *A. lumbricoides*.

In Mitre et al., the humoral immune responses in helminth infections were characterized by high antigen-specific IgE levels (33). In our study, subpopulations of children parasitized with other helminths, when compared with the non-parasitized, showed statistically significant IgEAsc levels, which can be attributed to the fact that the specific IgE responses to helminth infections remain for some time.

Several studies have reported that infection by helminths, such as *A. lumbricoides*, are characterized by elevated levels of total IgE antibodies, which begin to rise one week after infection and reach a peak two weeks after elevation of parasite-specific antibodies. In contrast, the specific IgE response to helminth infections is long lasting (33 - 34) and it acts in the expulsion of the parasite the host (35). But regarding the present system of production of IgE antibodies in the definitive host, the instances of natural infection remain a matter of investigation.

The infection with *A. lumbricoides* has been defined serologically by the presence of specific IgE. In the present study, the levels of IgEAsc were significantly higher in children with parasitized nematodes when compared to the non-parasitized. However, when this group was compared to a group with other parasites, there was no difference, suggesting that other intestinal parasites also have the ability to produce specific IgE antibodies, although the highest levels were from those who were with *A. lumbricoides*.

Figueredo et al., studying children with 4-11 years of age, living in the less-favored urban areas of Brazil, found especially high levels of total IgE, anti-*A. lumbricoides* IgE and IgG4 in children with chronic infection. (36). Other authors,

however, have found specific IgE to be associated with lower rates of helminth infection in humans (37-38).

Although this study has not collected information among the population, it is consistent to say that the IgE responses of the population are attached to the exposure to parasitic infections. The reason is that previous studies conducted in Natal, in our laboratory by Sales et al. (39), showed that in a population of children living in socioeconomic conditions similar to those of the population in this study, the levels of IgE to *A. lumbricoides* (median 12.4 kU/L) were significantly higher than for other allergens (cockroach or mite).

In the group of 23 children not parasitized in this study, 14 (60.9%) had detectable IgEAsc while 7 (30.4%) submitted high IgEAsc. According to studies by Souza et al. (40), the presence of IgEAsc in uninfected patients suggests an association with resistance to the parasite.

Fincham et al. also reported that many people who have no parasite eggs in feces and who are living in an endemic area are immunologically activated as a result of patent infection, patent or non-intermittent transient *Ascaris*, and / or other worms (31).

When the levels of total IgE and IgEAsc, were analyzed, a strong correlation was found, suggesting that the proteins of *A. lumbricoides* have the property to stimulate a significant production of IgE during helminth infection. A large amount of IgE produced against antigens of parasites along with a polyclonal stimulation lead to an increase of total IgE levels.

Another important factor in immune responses in this population is the high prevalence on polyparasitism found in this study to the extent that there is a pathogenic synergism that further aggravates the parasitic disease. This result is

similar to the ones of other studies conducted with a population of children in Brazil (14, 16, 41-43) and reveals that much of the population was co-infected with helminths and protozoa.

Soboslay et al., studying the responses of chemokines among individuals co-infected with *Entamoeba histolytica/dispar*, *Necator americanus* and *Mansonella* with polyparasitism in patients after treatment, commented that individuals living in endemic areas are usually co-infected with more than one intestinal parasite and this can compromise the immune response against a particular intestinal pathogen (44).

Most of the studies on immune responses in helminth infections do not take into account the presence of protozoa in responses by IgE and eosinophils although some authors have reported their involvement in immune responses (45-47). The present study found that total IgE levels were higher in the group of children parasitized only by protozoa than in those not parasitized.

Hangel et al. conducted a study on Th1 and Th2 immune responses in the co-infection of *Giardia duodenalis* in children and found that those with a light load of *A. lumbricoides* and co-infected with *G. duodenalis* showed growth stimulatory cytokine IL13, IL-6, and INF- γ as well as IgE and IgG antibodies in serum against antigens of *G. duodenalis* (20). Other protozoa have also been reported to raise levels of total IgE such as parasites of malaria (*Plasmodium falciparum*), Chagas disease, amebiasis. (48).

The presence of eosinophilia is associated with a wide variety of conditions, including asthma and atopic diseases, helminthic infections, hypersensitivity to drugs, and neoplastic disorders (49). It has been described that the helminth

parasite antigens are able to stimulate a Th2 response with production of IL-4 and IL-5, which induces IgE synthesis and promotes activation of eosinophils. (50)

In this study, in an area with high prevalence of intestinal parasites, eosinophilia was found in the majority of the population, 137 (66.8%) children, of which 125 (91.2%) were parasitized with helminths and intestinal protozoa, showing a statistically significant difference between the parasitized and the non-parasitized ($p = 0.02$).

The number of eosinophils found in the population was not related to age groups, gender, or parasite burden, no significant difference was found among them.

The mean number of eosinophils observed in children parasitized only by protozoa (8.1%) was slightly higher than those parasitized exclusively by helminths (7.3%), but no significant difference was found between the two groups. It is noteworthy that in our study population, *Giardia lamblia* (44.2%) was the most prevalent protozoan, followed by *Entameba histolytica / dispar* (32.8%).

Fontenele et al., analyzing the number of eosinophils in children and adolescents, found a prevalence of 52.6% of eosinophilia in patients who were exclusive carriers of *G. lamblia*, and suggested that infection by this parasite could develop a reaction in the intestinal mucosal hypersensitivity, in addition to increasing the concentration of eosinophils (49).

Ustun et al. studied the IL-5 and eosinophils in patients with parasitic infections and found that both were higher in the group with protozoa than in the group with helminths (52).

The relationship between eosinophilia (common in Th2 responses) and protozoa is rarely described in the literature. However, some authors regard it a

very important hematology parameter that must be considered in the approach and evaluation of the patient that who presents eosinophilia, as may be suggested not only in helminthiasis but also in cases of intestinal parasitic protozoa in particular giardiasis (51). According to Machado et al., giardiasis is a parasitic infection that causes severe eosinophilia as well as some helminthes (53).

The association between eosinophilia and IgE antibodies to *A. lumbricoides* suggests that the parasite was able to induce eosinophilia among children, which is in accordance with a study in children of the urban area in Brazil which reported a higher susceptibility association between helminth infections, especially in chronic infections, and the presence of total IgE and IgG4 anti-Ascaris antibodies (46).

Analyzing RR, we observed remarkable eosinophilia as a factor associated in with helminth infections and ascaridíase However, to infections, protozoa do not constitute a risk factor. to eosinophilia. For helminthiasis and ascariasis the elevation of IgE, showed risk factor to eosinophilia acording in part with the work of Vieira Silva (46).

In summary, the obtained data may suggest the infection of intestinal parasites, particularly *A. lumbricoides* induced a Th2-type immune response with production of total and specific IgE, and the production of eosinophils in infected children.

5. Acknowledgements

The authors thank the Laboratory of Allergy and Molecular Biology, Department of Pediatrics and Molecular Biology, School of Medicine Ribeirão Preto - USP, for the performance of the IgE examinations.

6. References

- [1] WHO. The Millennium Development Goals and deworming. Report of the third global meeting of the partners for parasite control: deworming for health and development Geneva: World Health Organization (2005) 25-26.
- [2] WHO. Preventative Chemotherapy in Human Helminthiases: Coordinated Use of Anthelmintic Drugs in Control Interventions: a Manual for Health Professionals and Programme Managers, World Health Organisation, Geneva, World Health Organisation, Geneva 2006.
- [3] Hotez P.J. Neglected infections of poverty in the United States of America. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2 (2008) 2545 - 256.
- [4] Maizels RM, Smith KA. Regulatory T cells in infection. *Adv Immunol* 112 (2011) 73-136.
- [5] Negrao-Correa D. Importance of immunoglobulin E (IgE) in the protective mechanism against gastrointestinal nematode infection: looking at the intestinal mucosae. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 43 (2001) 291-299.
- [6] White RR, Artavanis-Tsakonas K. How helminths use excretory secretory fractions to modulate dendritic cells. *Virulence* 7 (2012) 668-677.
- [7] McSorley HJ, Maizels RM. Helminth infections and host immune regulation. *Clin Microbiol Rev.* 25 (2012) 585-608.
- [8] Blagg W, Schloegel EL, Mansour NS, Khalaf GI. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am J Trop Med Hyg.* 4 (1955) 23-28.

- [9] Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 14 (1972) 397-400.
- [10] Montresor A, Crompton. D.W.T., Bundy, D.A.P., Hall, A., Savioli, L. Guidelines for the evaluation of soil transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level. (1998).
- [11] DACIE JVL, S.M. *Practical Haematology* 8ed. Livingstone C, editor. Philadelphia (1995).
- [12] Pereira M. *Epidemiologia-Teoria e Prática*. 11 ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan (2007).
- [13] Menezes AL, Lima VM, Freitas MT, Rocha MO, Silva EF, Dolabella SS. Prevalence of intestinal parasites in children from public daycare centers in the city of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 50 (2008) 57-59.
- [14] Silva JC, Furtado LF, Ferro TC, Bezerra Kde C, Borges EP, Melo AC. Parasitism due to *Ascaris lumbricoides* and its epidemiological characteristics among children in the State of Maranhão. *Rev Soc Bras Med Trop*. 4 (2011) 100-102.
- [15] Buschini MLTP, E.; Czervinski, T.;Mraes,I.F.. Moreira, M.M.; Sanches,H.F.; Monteiro, M.C. Spatial distribution of enteroparasites among school children from Guarapuava, State of Paraná, Brazil. *Rev Bras Epidemiol* 10 (2007) 568-578.
- [16] Valverde JG, Gomes-Silva A, De Carvalho Moreira CJ, Leles De Souza D, Jaeger LH, Martins PP, et al. Prevalence and epidemiology of intestinal parasitism, as revealed by three distinct techniques in an endemic area in the Brazilian Amazon. *Ann Trop Med Parasitol*. 105 (2011) 413-424.

- [17] Lander RL, Lander AG, Houghton L, Williams SM, Costa-Ribeiro H, Barreto DL, et al. Factors influencing growth and intestinal parasitic infections in preschoolers attending philanthropic daycare centers in Salvador, Northeast Region of Brazil. *Cad Saude Publica*. 28 (2012) 2177-2188.
- [18] de Silva NR, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitol*. 19 (2003) 547-551.
- [19] Cooper PJ, Ayre G, Martin C, Rizzo JA, Ponte EV, Cruz AA. Geohelminth infections: a review of the role of IgE and assessment of potential risks of anti-IgE treatment. *Allergy*. 63 (2008) 409-17.
- [20] Hagel I, Cabrera M, Puccio F, Santaella C, Buvat E, Infante B, et al. Co-infection with *Ascaris lumbricoides* modulates protective immune responses against *Giardia duodenalis* in school Venezuelan rural children. *Acta Trop*. 117 (2011) 189-195.
- [21] Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 9 (2009) 29-37.
- [22] van Riet E, Hartgers FC, Yazdanbakhsh M. Chronic helminth infections induce immunomodulation: consequences and mechanisms. *Immunobiology* 212 (2007) 475-90.
- [23] Karadag B, Ege M, Bradley JE, Braun-Fahrlander C, Riedler J, Nowak D, et al. The role of parasitic infections in atopic diseases in rural schoolchildren. *Allergy*. 61 (2006) 996-1001.
- [24] Johnston FH, Morris PS, Speare R, McCarthy J, Currie B, Ewald D, et al. Strongyloidiasis: a review of the evidence for Australian practitioners. *Aust J Rural Health* 13 (2005) 247-54.

- [25] Cooper PJ, Alexander N, Moncayo AL, Benitez SM, Chico ME, Vaca MG, et al. Environmental determinants of total IgE among school children living in the rural Tropics: importance of geohelminth infections and effect of anthelmintic treatment. *BMC Immunol* 9 (2008) 9:33.
- [26] Hagel I, Cabrera M, Sanchez P, Rodriguez P, Lattouf JJ. Role of the low affinity IgE receptor (CD23) on the IgE response against *Ascaris lumbricoides* in Warao Amerindian children from Venezuela. *Invest Clin*. 47 (2006) 241-251.
- [27] Naus CW, Booth M, Jones FM, Kemijumbi J, Vennervald BJ, Kariuki CH, et al. The relationship between age, sex, egg-count and specific antibody responses against *Schistosoma mansoni* antigens in a Ugandan fishing community. *Trop Med Int Health* 8 (2003) 561-568.
- [28] King EM, Kim HT, Dang NT, Michael E, Drake L, Needham C, et al. Immunopidemiology of *Ascaris lumbricoides* infection in a high transmission community: antibody responses and their impact on current and future infection intensity. *Parasite Immunol* 27 (2005) 89-96.
- [29] Blackwell AD, Gurven MD, Sugiyama LS, Madimenos FC, Liebert MA, Martin MA, et al. Evidence for a peak shift in a humoral response to helminths: age profiles of IgE in the Shuar of Ecuador, the Tsimane of Bolivia, and the U.S. NHANES. *PLoS Negl Trop Dis*. 5 (2011) 1218.
- [30] McSharry C, Xia Y, Holland CV, Kennedy MW. Natural immunity to *Ascaris lumbricoides* associated with immunoglobulin E antibody to ABA-1 allergen and inflammation indicators in children. *Infect Immun*. 67 (1999) 484-9.
- [31] Fincham JE, Markus MB, van der Merwe L, Adams VJ, van Stuijvenberg ME, Dhansay MA. *Ascaris*, co-infection and allergy: the importance of analysis based

on immunological variables rather than egg excretion. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 101 (2007) 680-682.

[32] Alcantara-Neves NM, Badaro SJ, dos Santos MC, Pontes-de-Carvalho L, Barreto ML. 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.* 11(2010) 111:114.

[33] Mitre E, Nutman TB. IgE memory: persistence of antigen-specific IgE responses years after treatment of human filarial infections. *J Allergy Clin Immunol.* 117 (2006) 939-45.

[34] Muto R, Imai S, Tezuka H, Furuhashi Y, Fujita K. The biological activity of ABA-1-like protein from *Ascaris lumbricoides*. *J Med Dent Sci.* 48 (2001) 95-104.

[35] Shaw RJ, Gatehouse TK, McNeill MM. Serum IgE responses during primary and challenge infections of sheep with *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Parasitol.* 28 (1998) 293-302.

[36] Figueiredo CA, Barreto ML, Rodrigues LC, Cooper PJ, Silva NB, Amorim LD, et al. Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. *Infect Immun.* 78 (2010) 3160-3167.

[37] Bethony J, Loukas A, Smout M, Brooker S, Mendez S, Plieskatt J, et al. Antibodies against a secreted protein from hookworm larvae reduce the intensity of hookworm infection in humans and vaccinated laboratory animals. *FASEB J.* 19 (2005) 1743-1745.

[38] Lobos E, Nutman TB, Hothersall JS, Moncada S. Elevated immunoglobulin E against recombinant *Brugia malayi* gamma-glutamyl transpeptidase in patients with

bancroftian filariasis: association with tropical pulmonary eosinophilia or putative immunity. *Infect Immun.* 71 (2003) 747-753.

[39] Sales VSR, C. E.; Cavalcanti, G. B.; Trombone, A. P. F.; Lima, R. C.; Santos, A. B.R., Olivera CF, V. P. L. ; Martin, D., Chapman MDMDA, L. K. Infection With *Ascaris lumbricoides* in Pre-School Children: Role in Wheezing and IgE Responses to Inhalant Allergens. *J Allergy Clin Immunol* 109 (2005)1.

[40] Souza V, Medeiros D, Sales I, Costa V, Silva A, Rizzo J, et al. *Ascaris lumbricoides* infection in urban schoolchildren: Specific IgE and IL-10 production. *Allergol Immunopathol (Madr)* (2013) 3

[41] Nobre LN, Silva RV, Macedo MS, Teixeira RA, Lamounier JA, Franceschini SC. Risk factors for intestinal parasitic infections in preschoolers in a low socio-economic area, Diamantina, Brazil. *Pathog Glob Health* 2013 Mar;107(2):103-106.

[42] Vasconcelos IABO, J.W.; Cabral, F.R.F. Coutinho, H.D.M. Menezes, I.R.A. Prevalence of intestinal parasite infections among 4- to 12-year-old children in Crato, Ceará State. *Acta Scientiarum Health Sciences.* 2011;33(1):35-41.

[43] Carvalho GL, Moreira LE, Pena JL, Marinho CC, Bahia MT, Machado-Coelho GL. A comparative study of the TF-Test(R), Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012 Feb;107(1):80-84.

[44] Soboslay PT, Hamm DM, Pfafflin F, Fendt J, Banla M, Schulz-Key H. Cytokine and chemokine responses in patients co-infected with *Entamoeba histolytica/dispar*, *Necator americanus* and *Mansonella perstans* and changes after anti-parasite treatment. *Microbes Infect.* 8 (2006) 238-247.

- [45] Behm CA, Ovington KS. The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. *Parasitol Today* 16 (2000) 202-209.
- [46] Vieira Silva CC, Nogueira Ferraz CR, Fornari JV, Sena Barnabe CA. Epidemiological analysis of eosinophilia and elevation of immunoglobulin E as a predictable and relative risk of enteroparasitosis. *Rev Cubana Med Trop.* 64 (2012) 22-26.
- [47] Weller PF. The immunobiology of eosinophils--it's a whole new world out there: an interview with Dr. Peter F. Weller. *J Leukoc Biol.* 83 (2008) 822-823.
- [48] Jimenez JC, Fontaine J, Grzych JM, Dei-Cas E, Capron M. Systemic and mucosal responses to oral administration of excretory and secretory antigens from *Giardia intestinalis*. *Clin Diagn Lab Immunol* 11 (2004) 152-160.
- [49] Takatsu K, Nakajima H. IL-5 and eosinophilia. *Curr Opin Immunol.* 20 (2008) 288-94.
- [50] Medeiros D SA, Rizzo JA, Motta ME, Oliveira FHB, Sarinho ESC. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. *J Pediatr* 82 (2006) 255-259.
- [51] Fontenele AC, PG; Ferreira, CHA; Girão, AB; Teixeira, MJ; Queiroz, JAN. Evaluation of the dosage of Interleukin-5 and immunoglobulin E in patients with giardiasis with or without eosinophilia. *Rev Bras Anal Clin* 38 (2006) 201-206.
- [52] Ustun S, Turgay N, Delibas SB, Ertabaklar H. Interleukin (IL) 5 levels and eosinophilia in patients with intestinal parasitic diseases. *World J Gastroenterol.* 15 (2004) 3643-3646.
- [53] Machado PRLPRLA, Maria Ilma A. S.; Carvalho, Lucas; Carvalho, Edgar M. Immune response mechanisms to infections. *An bras Dermatol* 79 (2004) 647-664.

Table1. Population characteristics and results of parasitological analysis according to age of children from an endemic area.

| Age Group (years) | 1-3 | 4-6 | 7-10 | Total |
|------------------------|-----------|-------------|--------------|------------|
| n (%) | 70 (34,2) | 122 (59,5) | 13 (6.3) | 205 (100) |
| Gender | | | | |
| Masc./Fem. | 41/29 | 65/57(122) | 9/4 (13) | 115/90 |
| Intestinal | | | | |
| Positive | 62 (34.1) | 107 (58.8) | 13 (7.1) | 182 (100) |
| Negative | 8 (34.8) | 15 (65,2) | 0 (0.0) | 23 (100) |
| Helminths | 14 (31,8) | 25 (56,8) | 5 (11,4) | 44 (100) |
| Protozoa | 9 (64.3) | 5 (35.7) | (0.0) | 14 (100) |
| Proto | 38(306) | 78 (62.9) | 8 (6.5) | 124 (100) |
| <i>A. lumbricoides</i> | | | | |
| n (%) | 44 (31.4) | 85 (60.7) | 11 (7.9) | 140 (100) |
| (EPG) | 3552 | 3504 | 6300 | 4452 |
| (Min - Max) | (24-2544) | (24 -74736) | (240 -14640) | (24-74736) |

Proto =protozoa, Hel=helminth

Table 2. Immunological parameters studied according to the characteristics of the population of 205 children from endemic areas. Natal, RN, BR.

| Variables | Total IgE (kU/L) Med. (IQR) | p- value* | IgEAsc (kU/L) Med (IQR) | p- value* | Eosinophilis (%) Med (IQR) | p- value* |
|-----------------------------|-----------------------------------|--------------|-------------------------------|--------------|----------------------------------|--------------|
| Age group | | | | | | |
| 1-3 year | 368 (684.5) | | 1,7 (2.7) | | 8,0 (10.0) | |
| 4-6 year | 488(1327) | 0.062 | 1.7 (3.3) | 0.961 | 7.5(10.7) | 0.271 |
| 7-10 year | 620 (1094) | | 1.3 (2.4) | | 5.0 (8.0) | |
| Gender | | | | | | |
| Male | 546(1252) | | 1.8(3.0) | | 8.0 (10.5) | |
| Female | 398(839.4) | 0.161 | 1.6 (3.3) | 0.996 | 7.0 (9.0) | 0.998 |
| Enteroparasitas | | | | | | |
| Positive | 541(1019) | | 1.8(3.9) | | 8.0(10.0) | |
| Negative | 143(437.9) | 0.005* | 0.5 (1.4) | 0.038* | 4.0 (5.5) | 0.022* |
| <i>A. lumbricoides</i> | | | | | | |
| Positive | 565(1141.2) | | 1.8(3.9) | | 9.0 (12.0) | |
| Negative | 253 (41.3) | 0.005* | 1.4(2.5) | 0.263 | 6.0 (6.0) | 0.029* |
| <i>A.lumbricoides</i> (EPG) | | | | | | |
| Light | 561(885.7) | | 1,8 (3.6) | | 9,0 (10.7) | |
| Moderate | 588(1268) | 0.309 | 1.5 (3.3) | 0.145 | 9,0 (10.0) | 0.821 |
| Heavy | 4006(4633) | | 10.5(89,8) | | 1.0 (4,0) | |

*Kruskal Wallis Test – Med: Mediana; IRQ: Range interquartílico

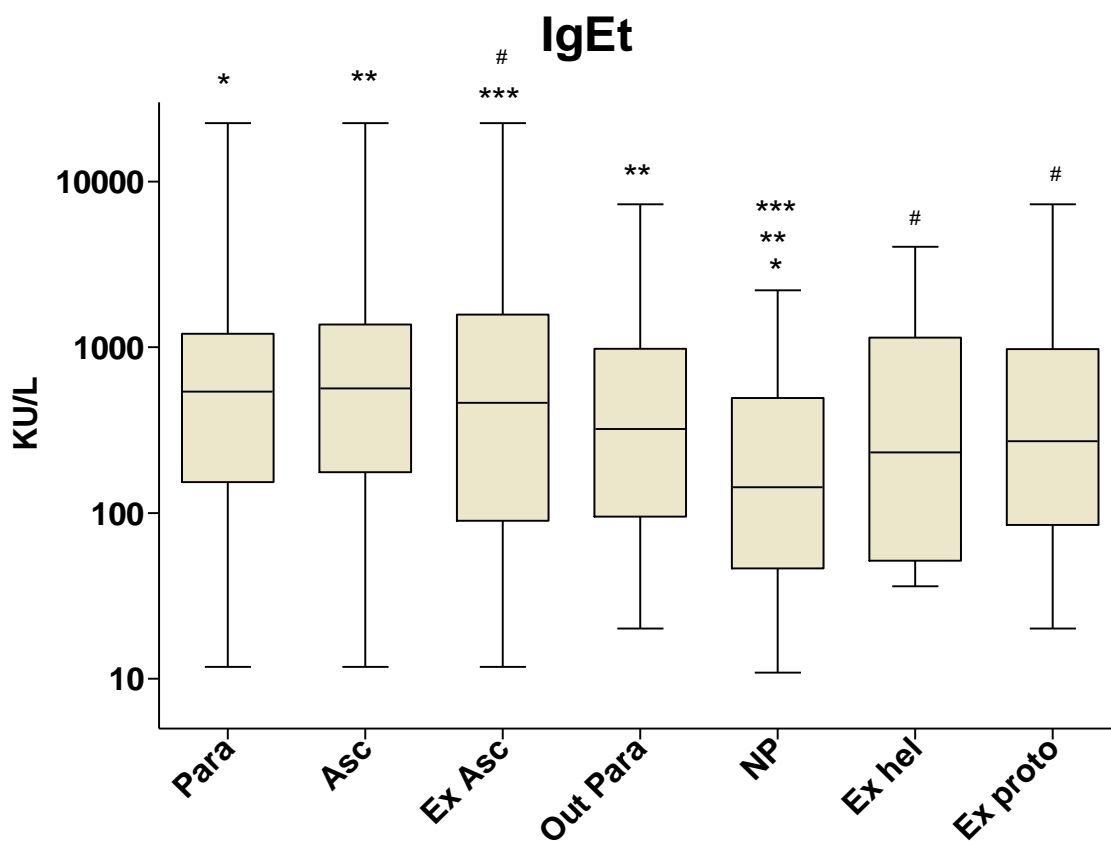


Figure 1 - Total IgE in children living in an area endemic for intestinal parasites in Natal / RN / BR.

Levels of total IgE were significantly higher in sera from children parasitized compared to those non-parasitized (NP), * $p < 0.01$; ** $p = 0.02$, compared to *A.lumbricoides* (Asc), other intestinal parasites (Out Para) and NP, *** $p < 0.01$, Compared to exclusively *A. lumbricoides* (Ex Asc) and NP; # $p < 0.01$, Compared to exclusively with helminths (Ex hel) or exclusively with protozoans (Ex proto) and Ex Asc.

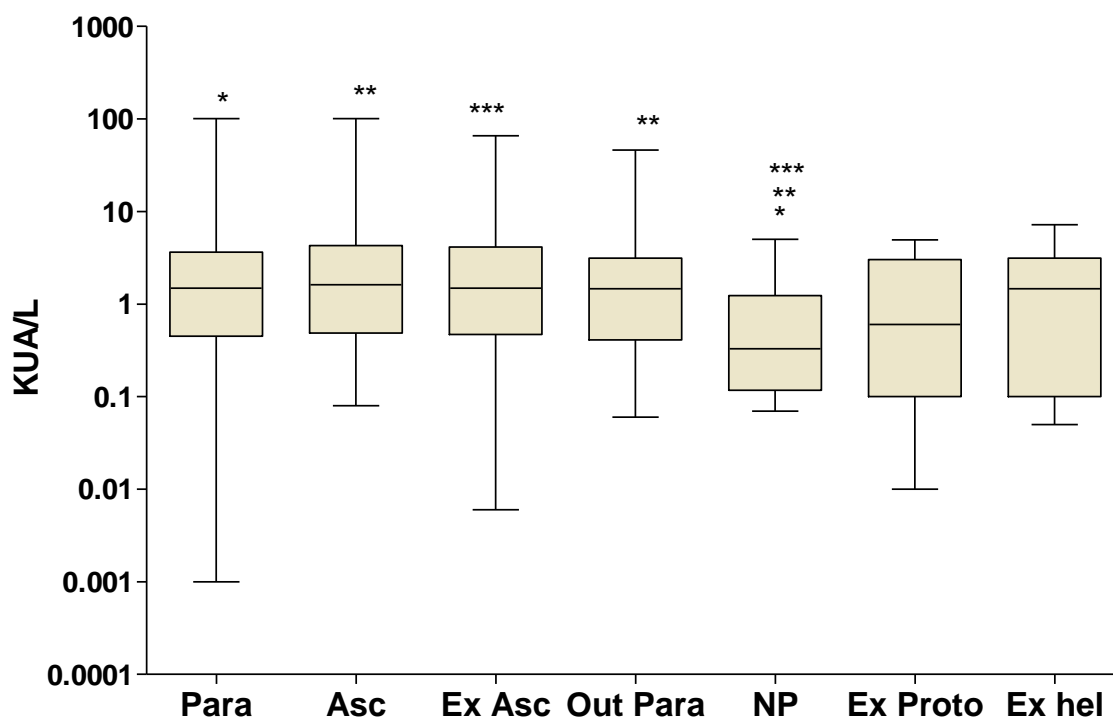


Figure 2 - Specific IgE to *A. lumbricoides* in children living in an area endemic for intestinal parasites in Natal / RN / BR.

The specific IgE levels were significantly higher in children parasitized (Para) compared to not parasitized (NP), * $p = 0.03$; Compared to *A. lumbricoides* (Asc), other parasites (Out Para) and NP ** $p = 0.01$; Compared exclusively *A. lumbricoides* (Ex Asc) with NP *** $p = 0.04$;

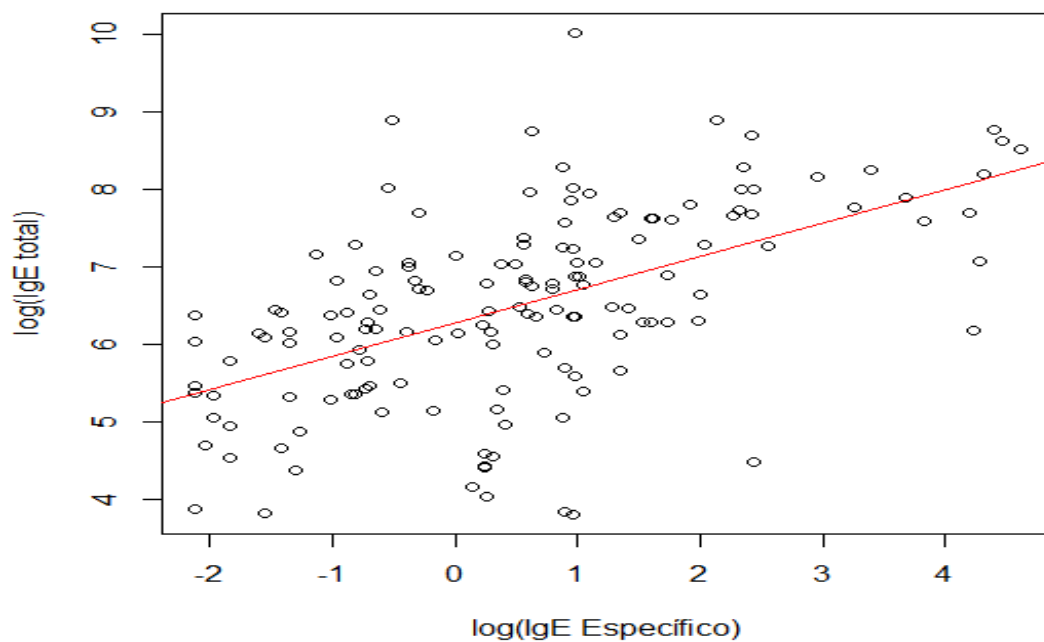


Figure 3 - Correlation of specific IgE to *A. lumbricoides* in relation to total IgE in children living in an endemic area in Natal / RN / BR. ($r = 0.55$ $p < 0.001$).

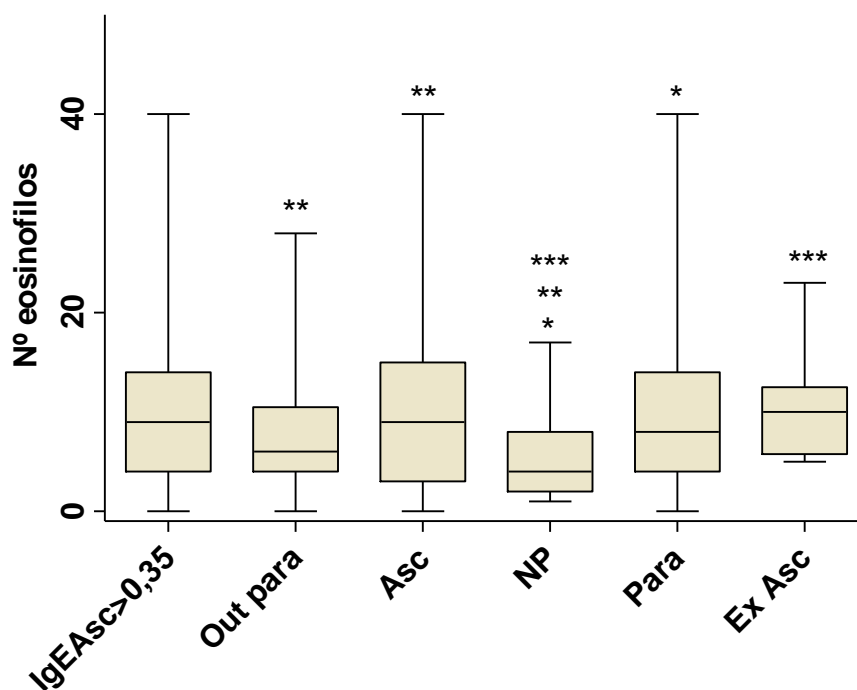


Figure 4 - Number of eosinophils in the population of children of an endemic area in Natal / RN / BR.

IgEAs: Immunoglobulin E to *A. lumbricoides*. Significant difference between the number of eosinophils: Children parasitized (Para) and not parasitized (NP) (* $p = 0.02$); among those who met with *A. lumbricoides* (Asc), had other parasites (Out para), and NP (** $p = 0.01$); Exclusively with *A. lumbricoides* (Ex Asc), and NP (***) $p < .01$).

6. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES

A maioria das etapas propostas pelo anteprojeto foi cumprida: O estudo da população, pesquisa da infecção parasitária através da coleta da amostra fecal conservada, o hemograma para detecção do número de eosinófilos no sangue, cultivo de larvas L3 infectantes, preparação dos extratos do verme adulto, do estado larvário e ovo, dosagem de proteínas e eletroforese do extrato preparado, análises por Enzimaímunoensaio (Elisa) por imunofluorimetria e dosagem de IgG e IgE anti-*A. lumbricoides* com os extratos obtidos (Elisa-house). No entanto, o trabalho enfrentou problemas, principalmente devido a ausência de recursos financeiros. Assim, no decorrer da execução do projeto, foi necessária uma mudança e conseqüentemente o título do projeto original foi modificado. Mediante as devidas alterações, o projeto realizado atingiu o objetivo proposto.

Não foi realizado o método de Graham, devido às dificuldades de coleta, o que poderia ter evidenciado com maior precisão a presença de *Enterobius vermicularis* nas crianças.

O total de 1453 crianças entre 1 a 12 anos que frequentavam 11 creches públicas da região Oeste da cidade de Natal, RN matriculadas ou que participavam como parentes, irmãos etc. Todas as crianças fizeram o exame parasitológico de fezes, no entanto somente 205 fizeram hemograma e as dosagem de IgE total e específica para *A. lumbricoides*. Todas as crianças parasitadas foram medicadas com preciação realizada pelo médico participante do projeto, mediante o peso, altura e idade das crianças com a colaboração da Unidade de Saúde do bairro de Cidade Nova e da Secretária de Saúde da Prefeitura de Natal, RN, que forneceu os medicamentos para o tratamento das infecções parasitárias. Além do tratamento também foi prestada uma orientação aos dos pais ou responsáveis sobre a profilaxia e epidemiologia das enteroparasitoses. Todas as funcionárias das creches também fizeram o exame parasitológico de fezes e, as que se encontravam parasitadas foram medicadas.

As dificuldades encontradas no decorrer do desenvolvimento do trabalho serviram para obter maior conhecimento e aprendizagem. As pesquisas realizadas antes e durante o trabalho foram de suma importância, pois foi a partir delas que conseguimos desenvolver estudos que se concretizaram em TCCs e apresentações em congressos e fórum.

As doenças infecciosas e parasitárias continuam a figurar entre as principais causas de morte em todo o mundo. Contudo, mais do que a mortalidade resultante dessas doenças, elas importam pela frequência com que produzem déficits orgânicos, comprometendo o desenvolvimento normal das crianças e limitando a capacidade de trabalho dos adultos, gerando um exército de enfermos que pesam no orçamento familiar e do Estado. Muitas dessas parasitoses, geralmente benignas ou fáceis de curar, se tornam fatores determinantes de óbitos, dependendo das circunstâncias, como por exemplo, em imunodeficientes. As parasitoses encontram-se entre os grandes problemas médico-sanitário dos países em desenvolvimento, a exigir consideráveis recursos financeiros, organização e pessoal habilitado para combatê-las. Portanto, a importância em se buscar o conhecimento científico dos parasitas e as relações parasito-hospedeiro é cada vez maior, para que possam resultar em informações ou metodologia a ser utilizadas na luta contra as doenças produzidas e, eventualmente, cooperar de forma ativa nos trabalhos de planejamento e controle das endemias que tantos malefícios provocam na saúde dos seres humanos.

“ ...modificar as condições epidemiológicas até o ponto em que o homem deixe de ser vítima de um processo natural, onde muitos sucumbem e outros padecem num desgaste que compromete a saúde e qualquer possibilidade de uma vida feliz” (Luís Rey).

- Diante dos dados obtidos neste, pretende-se continuar com o objetivo do estudo, buscando novos dados que fortaleçam os resultados encontrados como a análise do extrato do parasita por Western blot , e dosagens de citocinas, cultura de ovos etc., não só com o parasita estudado mas com outros parasitas que frequentemente infectam as crianças .

-

Um segundo artigo está sendo concluído e submetido: **Infecção por parasitas intestinais em crianças de zona urbana de região tropical, BR.**

▪ **Produção gerada:**

1. Apresentação de trabalhos em congressos científico (17)

1.1. Internacional

1.1.1. X CONGRESS OF THE LATIN-AMERICAN ASSOCIATION OF IMMUNOLOGY –ALAI – 20 MAIO A 2 JUNHO 2012 /LIMA-PERÚ: Prevalence of anti-Ascaris antibodies in children with parasitic infection.

1.1.2. INTERNATINAL CONGRESS OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICFINE DATA 2008.2 :Detection of the degree of parasitic in children from kindergartens of the city of Natal-RN.

1.2. Nacional (11)

1.2.1. XLVII CONGRESSO BRASILEIRO MEDICINA TROPICAL 2011.

- a. A Prevalência de anticorpo anti-Ascaris em crianças com Infecção parasitária.
- b. Avaliando a presença da giardíase em crianças de creches Públicas, na cidade de Natal/RN, através do exame parasitológico de fezes.
- c. Avaliação da Ascariíase em crianças menores de 5 Anos de Idade de creches na cidade de Natal,RN.
- d. Presença de Larvas *Strongyloides Stercoralis* no exame de Urina: Relato de caso

1.2.2. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA DATA
24^a 27 DE AGOSTO DE 2011 / SP

- a. Relação entre Eosinofilia e Intensidade da Infecção por *Ascaris lumbricoides* em Crianças Menores de 6 Anos na Cidade de Natal-RN.

1.2.3. REUNIÃO ANUAL DA SBPS 25 A 30 DE JULHO DE 2010

- a. Infecção por parasitoses intestinais em crianças que freqüentam creches no município de Natal/RN.
- b. Prevalência e intensidade da infecção por *Ascaris lumbricoides* em crianças de creches da zona oeste de cidade de Natal-RN.

1.2.4. XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA E II
ENCONTRO DE PARASITOLOGIA DO MERCOSUL 2009

- a. Evolução dos ovos de *Ascaris lumbricoides* mediante a ação de detergentes e desinfetantes
- b. Ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas feiras livres da cidade de Natal – RN.
- c. Prevalência de enteroparasitas em crianças do bairro de Cidade Nova Natal/ RN.
- d. Dados epidemiológicos da infecção por *Schistosoma mansoni* em pacientes residentes na cidade de Touros/RN.

1.2.5. CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA :

- a. Avaliação da parasitemia e das condições que predispõem à infecção em crianças que frequentam o centro infantil cidade nova, no município de Natal-RN.
- b. Análise parasitológica em crianças da creche nossa senhora de Fátima no bairro de Felipe Camarão, Natal, RN.
- c. Correlação entre parasitas intestinais e anemia em crianças menores de 10 ano, 2011.
- d. Relação entre eosinofilia e intensidade da infecção por *Ascaris lumbricoides* em crianças menores de 6 anos na cidade de Natal-RN

2- Trabalhos de Conclusão de curso de Farmácia: (12)

3- Projetos de extensão: (3)

- a. Avaliação Laboratorial e Nutricional em crianças de Creche Pública do Município de Natal-RN.
- b. Avaliação da Parasitemia e das condições que predispõem a Infecção em crianças que freqüentam o Centro Infantil de Cidade Nova, no Município de Natal-RN.
- c. Fatores sócio-econômicos e ambientais na proliferação da ascaridíase e enterobíase na Creche Recanto de Clara na cidade do Natal-RN.

4- Projeto de pesquisa: (1)

- a. Avaliação da ascaridíase em crianças menores de 5 anos de idade na cidade de Natal, RN.

7. REFERÊNCIAS

1. WHO. The Millennium Development Goals and deworming. Report of the third global meeting of the partners for parasite control: deworming for health and development Geneva: World Health Organization. 2005;25-26.
2. WHO. Preventative Chemotherapy in Human Helminthiasis: Coordinated Use of Anthelmintic Drugs in Control Interventions: a Manual for Health Professionals and Programme Managers, World Health Organisation, Geneva, . World Health Organisation, Geneva, . 2006.
3. Fonseca EO, Teixeira MG, Barreto ML, Carmo EH, Costa Mda C. Prevalence and factors associated with geohelminth infections in children living in municipalities with low HDI in North and Northeast Brazil. *Cad Saude Publica*. 2010 Jan;26(1):143-52.
4. Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest*. 2008 Apr;118(4):1311-21.
5. de Silva NR, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. *Trends Parasitol*. 2003 Dec;19(12):547-51.
6. Hotez PJ. Neglected infections of poverty in the United States of America. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(6):e256.
7. Loukas A, Prociv P. Immune responses in hookworm infections. *Clin Microbiol Rev*. 2001 Oct;14(4):689-703, table of contents.
8. Fauci AS, Morens DM. The perpetual challenge of infectious diseases. *N Engl J Med*. 2012 Feb 2;366(5):454-61.
9. Zaccone P, Fehervari Z, Phillips JM, Dunne DW, Cooke A. Parasitic worms and inflammatory diseases. *Parasite Immunol*. 2006 Oct;28(10):515-23.
10. Figueiredo CA, Barreto ML, Rodrigues LC, Cooper PJ, Silva NB, Amorim LD, et al. Chronic intestinal helminth infections are associated with immune hyporesponsiveness and induction of a regulatory network. *Infect Immun*. 2010 Jul;78(7):3160-7.
11. White RR, Artavanis-Tsakonas K. How helminths use excretory secretory fractions to modulate dendritic cells. *Virulence*. 2012 Nov 15;3(7).
12. Wiria AE, Djuardi Y, Supali T, Sartono E, Yazdanbakhsh M. Helminth infection in populations undergoing epidemiological transition: a friend or foe? *Semin Immunopathol*. 2012 Nov;34(6):889-901.
13. McSorley HJ, Maizels RM. Helminth infections and host immune regulation. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Oct;25(4):585-608.
14. Girgis NM, Gundra UM, Loke P. Immune regulation during helminth infections. *PLoS Pathog*. 2013 Apr;9(4):e1003250.
15. Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009 Feb;9(1):29-37.
16. Allen JE, Wynn TA. Evolution of Th2 immunity: a rapid repair response to tissue destructive pathogens. *PLoS Pathog*. 2011 May;7(5):e1002003.
17. Amiri P, Haak-Frendscho M, Robbins K, McKerrow JH, Stewart T, Jardieu P. Anti-immunoglobulin E treatment decreases worm burden and egg production in *Schistosoma mansoni*-infected normal and interferon gamma knockout mice. *J Exp Med*. 1994 Jul 1;180(1):43-51.
18. Negrao-Correa D. Importance of immunoglobulin E (IgE) in the protective mechanism against gastrointestinal nematode infection: looking at the intestinal mucosae. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2001 Sep-Oct;43(5):291-9.

19. Maizels RM, Hewitson JP, Smith KA. Susceptibility and immunity to helminth parasites. *Curr Opin Immunol*. 2012 Jul 11.
20. Dold C, Holland CV. Investigating the underlying mechanism of resistance to *Ascaris* infection. *Microbes Infect*. 2011 Jul;13(7):624-31.
21. Acevedo N, Caraballo L. IgE cross-reactivity between *Ascaris lumbricoides* and mite allergens: possible influences on allergic sensitization and asthma. *Parasite Immunol*. 2011 Jun;33(6):309-21.
22. King EM, Kim HT, Dang NT, Michael E, Drake L, Needham C, et al. Immuno-epidemiology of *Ascaris lumbricoides* infection in a high transmission community: antibody responses and their impact on current and future infection intensity. *Parasite Immunol*. 2005 Mar;27(3):89-96.
23. Maizels RM, Smith KA. Regulatory T cells in infection. *Adv Immunol*. 2011;112:73-136.
24. McDonald V. Parasites in the gastrointestinal tract. *Parasite Immunol*. 2003 May;25(5):231-4.
25. Schneider B, Jariwala AR, Periago MV, Gazzinelli MF, Bose SN, Hotez PJ, et al. A history of hookworm vaccine development. *Hum Vaccin*. 2011 Nov;7(11):1234-44.
26. Hotez PJ, Brown AS. Neglected tropical disease vaccines. *Biologicals*. 2009 Jun;37(3):160-4.
27. Lawrence CE. Is there a common mechanism of gastrointestinal nematode expulsion? *Parasite Immunol*. 2003 May;25(5):271-81.
28. Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science*. 2002 Apr 19;296(5567):490-4.
29. Cooper PJ. Intestinal worms and human allergy. *Parasite Immunol*. 2004 Nov-Dec;26(11-12):455-67.
30. Schwartz LB, Austen KF. Structure and function of the chemical mediators of mast cells. *Prog Allergy*. 1984;34:271-321.
31. Turner JD, Faulkner H, Kamgno J, Kennedy MW, Behnke J, Boussinesq M, et al. Allergen-specific IgE and IgG4 are markers of resistance and susceptibility in a human intestinal nematode infection. *Microbes Infect*. 2005 Jun;7(7-8):990-6.
32. Clough D, Kappeler PM, Walter L. Genetic regulation of parasite infection: empirical evidence of the functional significance of an IL4 gene SNP on nematode infections in wild primates. *Front Zool*. 2011;8(1):9.
33. Acevedo N, Mercado D, Vergara C, Sanchez J, Kennedy MW, Jimenez S, et al. Association between total immunoglobulin E and antibody responses to naturally acquired *Ascaris lumbricoides* infection and polymorphisms of immune system-related LIG4, TNFSF13B and IRS2 genes. *Clin Exp Immunol*. 2009 Aug;157(2):282-90.
34. Williams-Blangero S, VandeBerg JL, Subedi J, Aivaliotis MJ, Rai DR, Upadhayay RP, et al. Genes on chromosomes 1 and 13 have significant effects on *Ascaris* infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Apr 16;99(8):5533-8.
35. Williams-Blangero S, Vandeberg JL, Subedi J, Jha B, Correa-Oliveira R, Blangero J. Localization of multiple quantitative trait loci influencing susceptibility to infection with *Ascaris lumbricoides*. *J Infect Dis*. 2008 Jan 1;197(1):66-71.
36. Macedo-Soares MF, Itami DM, Lima C, Perini A, Faquim-Mauro EL, Martins MA, et al. Lung eosinophilic inflammation and airway hyperreactivity are enhanced by murine anaphylactic, but not nonanaphylactic, IgG1 antibodies. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Jul;114(1):97-104.
37. Macedo MS, Barbuto JA. Murine delayed type hypersensitivity is suppressed by *Ascaris suum* extract. *Braz J Med Biol Res*. 1988;21(3):523-5.
38. Harhay MO, Horton J, Olliaro PL. Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010 Feb;8(2):219-34.
39. Arruda LK, Santos AB. Immunologic responses to common antigens in helminthic infections and allergic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005 Oct;5(5):399-402.

40. Xia Y, Spence HJ, Moore J, Heaney N, McDermott L, Cooper A, et al. The ABA-1 allergen of *Ascaris lumbricoides*: sequence polymorphism, stage and tissue-specific expression, lipid binding function, and protein biophysical properties. *Parasitology*. 2000 Feb;120 (Pt 2):211-24.
41. Santos AB, Rocha GM, Oliver C, Ferriani VP, Lima RC, Palma MS, et al. Cross-reactive IgE antibody responses to tropomyosins from *Ascaris lumbricoides* and cockroach. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Apr;121(4):1040-6 e1.
42. Melo-Reis PR, Diniz-Filho, J.A.F., Dias-Penna, K.G.B., Costa, S.H.N., Mesquita, M.M., Silva, J. B.,Castro, F.S., Chen, L.C. Correlation between eosinophilia and parasitic infections for *Giardia lamblia* in children. *RBAC*,. 2007;39 (3):237-9.
43. Machado RLDF, M.C.; Frade, A.F.; Kudo, M.D.; Sila, Filho. M.G.; Póvoa MM. Comparação de quatro métodos laboratoriais para diagnóstico da *Giardia lamblia* em fezes de crianças residentes em Belém, Pará. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001;34(1):91-3.
44. Vieira Silva CC, Nogueira Ferraz CR, Fornari JV, Sena Barnabe CA. Epidemiological analysis of eosinophilia and elevation of immunoglobulin E as a predictable and relative risk of enteroparasitosis. *Rev Cubana Med Trop*. 2012 Jan-Apr;64(1):22-6.
45. Fontenele ALA, Carvalho, P.G.C; Ferreira, C. H. A.;Girão, A.B.; Teixeira, M.J.; Queiroz, J. A.N., Almeida, Y. M. Evaluation of dosage of interleucina-5 and immunoglobulin e in patients with giardíase with or without eosinophilia. *RBAC*. 2006;38(3):201-6.
46. Behm CA, Ovington KS. The role of eosinophils in parasitic helminth infections: insights from genetically modified mice. *Parasitol Today*. 2000 May;16(5):202-9.
47. Naus CW, Booth M, Jones FM, Kemijumbi J, Vennervald BJ, Kariuki CH, et al. The relationship between age, sex, egg-count and specific antibody responses against *Schistosoma mansoni* antigens in a Ugandan fishing community. *Trop Med Int Health*. 2003 Jun;8(6):561-8.
48. Blagg W, Schloegel EL, Mansour NS, Khalaf GI. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *Am J Trop Med Hyg*. 1955 Jan;4(1):23-8.
49. Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1972 Nov-Dec;14(6):397-400.
50. Montresor A, Crompton. D.W.T., Bundy, D.A.P., Hall, A., Savioli, L. Guidelines for the evaluation of soil transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level. [serial on the Internet]. 1998.
51. DACIE JVL, S.M. *Practical Haematology* 8ed. Livingstone C, editor. Philadelphia1995.
52. Pereira M. *Epidemiologia-Teoria e Prática*. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.

8. APÊNDICE



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO ONOFRE LOPES (CEP-HUOL)

CERTIFICADO


O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (CEP-HUOL), devidamente reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS), analisou o projeto:

Título: Avaliação parasitológica de crianças de creches na cidade de Natal/RN. – Protocolo – 057/06

Pesquisador Responsável: Edna Marques de Araújo Silva

Este projeto foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, incluindo o termo de consentimento livre e esclarecido, de acordo com as diretrizes da Resolução 196/96 e complementares, do Conselho Nacional de Saúde, em reunião plenária do CEP-HUOL realizada no dia 30 de março de 2007. Toda e qualquer alteração no projeto/protocolo de pesquisa, assim como eventos adversos que venham a ocorrer deverão ser comunicados oficialmente e imediatamente ao CEP-HUOL. O relatório final do projeto ou a cópia de sua publicação deverá ser encaminhado ao CEP/HUOL após o término do estudo, conforme cronograma, com a respectiva cópia da folha de rosto.

Natal, 30 de março de 2007.


Prof. Aldo da Cunha Medeiros
Coordenador do CEP – HUOL
PROF. ALDO DA CUNHA MEDEIROS
COORDENADOR DO CEP/HUOL

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (CEP-HUOL) - Av. Nilo Peçanha 620,
Petrópolis, Natal-RN, 59.012-300. Fone: 84-32023719 Ramal 242. email:cep_huol@yahoo.com.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS TOXICOLÓGICAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Identificação de antígenos de *Ascaris lumbricoides* indutores de resposta imune

Responsável pela pesquisa: Valeria Soraya de Farias Sales

O (a) Sr(a) ou o menor pelo qual é responsável está sendo convidado(a) a participar, voluntariamente, de uma pesquisa que visa identificar antígenos de *Ascaris lumbricoides* e a resposta do seu organismo para se defender deste parasita. Para avaliação desse estudo, será necessário e a coleta de amostras fecais para a realização do exame parasitológico e 10 mL de sangue periférico para realização dos exames imunológicos. O sangue será coletado por punção venosa na Creche “Recanto de Clara” situada na própria comunidade e as amostras de fezes que deverão ser coletadas na residência, em recipiente descontaminado ou em um papel limpo sob o chão, em seguida com o auxílio de uma palheta, devendo ser retirado parte do material e transportado para o frasco coletor plástico próprio, que será cedido pelo projeto. Todo o procedimento da coleta da amostra será fornecido, ao responsável e ou a criança maior, com antecedência e a amostra deverá ser entregue na creche. As amostras serão analisadas no Laboratório de Imunologia Clínica e Parasitologia Clínica da UFRN situadas em Natal-RN. O resultado do exame será entregue ao paciente e ao pai ou responsável pela criança para então ser examinada e o médico definido a melhor forma de tratamento.

Os riscos da participação nesta pesquisa são mínimos e são referentes ao procedimento de coleta, tais como: hematomas, sangramentos e desmaios referentes à coleta do material biológico, no entanto, não há riscos previsíveis mas se vier a ocorrer qualquer problema com coleta do sangue na veia você terá toda a assistência. Porém, em caso de dano pessoal diretamente causado pelo procedimento, o participante tem direito a tratamento médico na instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas e será ressarcido por despesas comprovadamente relacionadas à participação na pesquisa. A aceitação não está vinculada a nenhum tipo de remuneração e nem haverá despesas antecipadas devido à participação. O pesquisador se compromete a utilizar os dados somente para essa pesquisa mantendo em sigilo as informações obtidas.

Sua participação ou do seu filho neste estudo é totalmente voluntária, podendo recusar-se a fazer parte do mesmo ou interromper se julgar conveniente, sem prejuízo de sua relação com a creche.

A pesquisa se encerra com o procedimento realizado e analisado o seu resultado.

Estas informações estão sendo fornecidas para que seja permitida a sua participação voluntária e ou de seu filho neste estudo. Em caso de desistência ou de dúvidas sobre a pesquisa, entrar em contato com a Profa. Valéria Soraya de Farias Sales do Departamento de Análises Clínicas, Av. General Cordeiro de Farias s/n Petrópolis; fone: 3215-4229. Lembre-se que você pode retirar o consentimento de participação na pesquisa em qualquer momento, sem qualquer prejuízo. Em caso de necessidade de esclarecimentos ou queixas éticas relativas a esta pesquisa, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, Campus Universitário; fone 3215-3135.

Eu, _____ fui esclarecida (o) a respeito do estudo sobre gordura fecal. Ficou claro qual o propósito do estudo, o procedimento a ser realizado, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, portanto, concordo com a minha participação e ou do meu/minha filho (a) _____ neste estudo. Estou ciente que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízo ao seu atendimento neste serviço. Desta forma, permito que seja realizado o exame aqui esclarecidos e concordo que os dados obtidos sejam utilizados para os fins a que se prestam.

Assinatura dos pais ou responsável legal _____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento livre e esclarecido deste paciente ou de seu representante legal para a sua participação neste estudo.

Pesquisadora: _____

Natal, ____ de _____ de 200__