

Artikel asli

ASOSIASI PENYAKIT ALERGI ATOPI DENGAN IgG ANTI HELICOBACTER PYLORI PENELITIAN OBSERVASIONAL KASUS KONTROL ANALITIK DI UNIT RAWAT JALAN PENYAKIT DALAM RSU Dr SOETOMO SURABAYA

Agung PP, Novida H, Fetarayani D, Baskoro A, Soegiarto G, Effendi C
Bagian/SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Unair/RSU Dr Soetomo Surabaya
Email: ppagung@yahoo.com

ABSTRACT

Approximately 20% of the world populations suffer from IgE-mediated allergic diseases. Although genetic factors play an important role in the manifestation of allergic disease, the existence of other factors such as lifestyle factors, socioeconomic factors and presence of oro-fecal infection including *Helicobacter pylori* infection also take a part. This is based on the hygiene hypothesis that infections in childhood can reduce allergic diseases. We conduct a study to analyze negative association between allergic diseases with IgG anti *Helicobacter pylori*. This is a matched case control study involved 52 patients in Internal Medicine outpatient ward Dr. Soetomo Hospital Surabaya consisting of 26 patients with allergic diseases as a group of cases and 26 non-allergic patients as controls. Allergic disease was diagnosed by anamnesis, physical examination, and skin prick tests, whereas IgG anti *Helicobacter pylori* was measured using immunochromatography technique. We found in the allergic group there were 19 patient (73.08%) with positive *Helicobacter pylori* and 7 patient (26.92%) with negative result. Whereas in control group there were 21 patient (80.77%) with positive *Helicobacter pylori* result and 5 patient (19.23%) were negative. *Helicobacter pylori* serology had protective effect to allergic disease (OR 0.67, CI 95%). Was the conclusion, there is negative association between atopic allergic diseases with IgG anti *Helicobacter pylori*

Keywords: IgE-mediated, allergic disease, *Helicobacter pylori*

PENDAHULUAN

Alergi atau penyakit alergi adalah penyakit yang didasari oleh reaksi hipersensitivitas yang dilandasi dengan mekanisme imunologi. Sekitar 20% dari populasi dunia menderita penyakit alergi yang dimediasi IgE, seperti asma alergi, rhinitis alergi, dermatitis atopi dan anafilaksis. Menurut WHO, 150 juta populasi dewasa menderita asma bronkhial dan 50% diantaranya didasari penyakit alergi.^{1,2}

Selain faktor genetik, adanya perubahan faktor lingkungan seperti gaya hidup, polusi, rokok, diet dan sosioekonomi juga ikut mempengaruhi terjadinya penyakit alergi. Strachan³ sekitar 20 tahun

yang lalu mengajukan pemikiran adanya hubungan antara infeksi dengan timbulnya penyakit alergi. Penelitian Matricardi menunjukkan bahwa infeksi orofekal seperti *Helicobacter pylori*, *Toxoplasma gondii* dan Hepatitis A virus dapat menurunkan risiko penyakit alergi.

Prevalensi penyakit atopi meningkat di negara-negara industri dalam dua dekade terakhir, namun peningkatan ini tidak dijumpai di negara-negara berkembang. Hal ini sejalan dengan teori hipotesis higiene yang menunjukkan bahwa paparan infeksi dapat mempengaruhi keseimbangan respon Th1-Th2 sehingga menurunkan prevalensi penyakit alergi. Hal ini juga didukung oleh beberapa studi

epidemiologis yang menyatakan adanya hubungan terbalik antara paparan mikroba terutama dengan prevalensi penyakit alergi.^{4,6}

Infeksi *Helicobacter pylori* ikut berperan pada timbulnya gastritis kronik, gastritis atrofik, metaplasia intestinal, karsinoma lambung maupun *Mucosal Associated Lymphoid Tissue (MALT)* limfoma, namun disisi yang lain infeksi *Helicobacter pylori* dapat menurunkan prevalensi penyakit alergi. Infeksi *Helicobacter pylori* sampai saat ini masih menjadi salah satu fokus penelitian dibidang alergi karena merupakanagen infeksi kronis yang didapatkan hampir di seluruh dunia, sering didapatkan sejak masa kanak-kanak dan mudah dideteksi dengan pemeriksaan non-invasif.⁷

Prevalensi infeksi *Helicobacter pylori* sangat bervariasi antar negara maupun kelompok populasi dalam satu negara. Secara keseluruhan prevalensi infeksi *Helicobacter pylori* mencapai 40%.^{4,8} Studi sero-epidemiologi beberapa kota di Indonesia didapatkan frekuensi IgG anti Hp positif yaitu Malang, Solo dan Medan (34 – 37%), Mataram 54%, Denpasar 35%, Surabaya 36%, Jakarta 50 – 67%, Jakarta 52,3%, dan Trenggalek 45,6%.^{9,10}

Indonesia adalah negara berkembang dengan prevalensi infeksi *Helicobacter pylori* yang tinggi, sehingga memungkinkan infeksi *Helicobacter pylori* ini banyak menjadi fokus penelitian, apalagi belum ada data penelitian yang menghubungkan antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan penyakit atopi. Berkaitan dengan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui asosiasi terbalik antara infeksi *Helicobacter pylori* yang didiagnosis melalui pemeriksaan IgG anti Hp dengan penyakit alergi atopi.

BAHAN DAN CARA

Jenis penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik dengan desain penelitian kasus-kontrol dengan padanan (*matching*) individual

pada variabel kelompok umur dan jenis kelamin untuk mengetahui adanya asosiasi antara penyakit alergi atopidengan IgG anti Hp. Sebagai kelompok kasus adalah penderita alergi atopi yang telah ditegakkan diagnosisnya berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik ditunjang oleh hasil tes tusuk kulit yang positif. Sedangkan kelompok kontrol adalah penderita non-atopi yaitu penderita yang secara anamnesis maupun pemeriksaan fisik tidak memiliki manifestasi maupun riwayat alergi atopi dengan hasil tes tusuk kulit yang negatif. Kelompok kontrol diambil dengan melakukan padananvariabel kelompok umur dan jenis kelamin.

Penelitian dilakukan di unit rawat jalan RSU Dr Soetomo Surabaya mulai bulan Januari 2010 sampai dengan Juni 2010. Populasi Penelitian adalah penderita yang berkunjung ke Unit Rawat Jalan Penyakit Dalam RSU Dr Soetomo Surabaya. Sampel penelitian adalah penderita yang memenuhi criteria inklusi dan eksklusi dari populasi penelitian yang telah dipilih melalui teknik *simple random sampling*.

Kriteria inklusi kelompok kasus adalah penderita yang datang berobat ke unit rawat jalan Penyakit Dalam baik yang memiliki penyakit alergi berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan tes tusuk kulit positif, berusia 18 – 60 tahun, dan bersedia mengikuti penelitian ini dengan menandatangani lembar persetujuan. Kriteria inklusi kelompok kontrol adalah penderita yang datang berobat ke Unit Rawat Jalan Penyakit Dalam baik yang tidak memiliki penyakit alergi berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan tes tusuk kulit negatif, berusia 18 – 60 tahun, dan bersedia untuk mengikuti penelitian ini dengan menandatangani lembar persetujuan. Kriteria eksklusi adalah penderita dengan perdarahan saluran makanan bagian atas maupun bawah, tidak kooperatif, hamil, dicurigai menderita penyakit imunodefisiensi, tidak memenuhi syarat untuk dilakukan tes tusuk kulit.

Besar sampel yang akan diteliti menurut perhitungan adalah 52 orang dengan 26 orang penderita penyakit alergi atopi sebagai kelompok kasus dan 26 orang penderita non-atopi sebagai kelompok kontrol. Sampel yang akan diteliti sebagai kelompok kasus diambil dengan teknik pengambilan sampel secara *simple random sampling*. Sedangkan kelompok control diambil dengan memadankan variabel jenis kelamin dan kelompok usia (dengan rentang usia 5 tahun).

Diagnosis alergi ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik dan ditunjang dengan hasil tes tusuk kulit yang positif dengan salah satu atau lebih alergen yang dipergunakan. Ekstrak alergen yang digunakan diproduksi oleh laboratorium ekstrak alergen bagian farmasi RSUD Dr Soetomo Surabaya. Alergen yang digunakan adalah 4 alergen hirup antara lain debu rumah, bulu kucing, kapuk dan bulu ayam, 15 alergen makanan yaitu pisang, nanas, jeruk, beras, terigu, susu, putih telur, kuning telur, pindang, udang, daging sapi, daging ayam, coklat, kacang tanah dan kentang. Sebagai kontrol negatif adalah larutan cocca dan kontrol positif adalah larutan histamin 1%. IgG anti Hp diperiksa dengan tes serologi metode imunokromatografi menggunakan reagensia buatan Unit Riset Bio Medik RSUD Mataram yang memiliki sensitivitas 92,5% dan spesifisitas 95%.⁴ Sampel diperiksa di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr Soetomo Surabaya.

Variabel yang diteliti berupa variabel independen (IgG anti Hp) dan variabel tergantung penyakit alergi atopi. Data yang masuk dianalisis menggunakan analisis faktor risiko dan hasil dikatakan bermakna bila hasil OR yang diperoleh masih didalam rentang *confidence interval*.

HASIL

Jumlah penderita pada kelompok kasus (penderita alergi) dan kelompok kontrol (normal)

adalah masing-masing 26 orang, sehingga jumlah total adalah 52 orang. Masing-masing dilakukan *matching* pada variabel jenis kelamin dan kelompok umur, sehingga jumlah penderita alergi maupun kontrol memiliki karakteristik jenis kelamin dan kelompok umur yang sama. Penderita perempuan didapatkan lebih banyak dibandingkan laki-laki dengan rasio 1,88 : 1. Sedangkan berdasarkan kelompok umur didapatkan kelompok umur 26 – 30 tahun yaitu 11 orang (42,3%), kemudian kelompok umur 31 – 35 tahun 4 orang (15,4%), kelompok umur 36 – 40 tahun 3 orang (11,5%), kelompok umur 26-30 tahun, 41 – 45 tahun, dan 46 – 50 tahun masing-masing 2 orang (7,7%). Kelompok umur < 20 tahun, 21 – 25 tahun, 51 – 55 tahun dan 56 – 60 tahun masing-masing 1 orang (3,8%). (Tabel 1)

Tabel 1. Karakteristik umum sampel

| Variabel | Kelompok alergi | Kelompok kontrol |
|------------------|-----------------|------------------|
| Jumlah penderita | 26 orang (100%) | 26 orang (100%) |
| Jenis kelamin | | |
| - laki-laki | 9 (34,6 %) | 9 (34,6 %) |
| - perempuan | 17 (65,4%) | 17 (65,4%) |
| Kelompok umur | | |
| - ≤ 20 th | 1 (3,8%) | 1 (3,8%) |
| - 21 – 25 th | 1 (3,8%) | 1 (3,8%) |
| - 26 – 30 th | 11 (42,3%) | 11 (42,3%) |
| - 31 – 35 th | 4 (15,4%) | 4 (15,4%) |
| - 36 – 40 th | 3 (11,5%) | 3 (11,5%) |
| - 41 – 45 th | 2 (7,7%) | 2 (7,7%) |
| - 46 – 50 th | 2 (7,7%) | 2 (7,7%) |
| - 51 – 55 th | 1 (3,8%) | 1 (3,8%) |
| - 56 – 60 th | 1 (3,8%) | 1 (3,8%) |

Jumlah penderita pada kelompok kasus (penderita alergi) dan kelompok kontrol (normal) adalah masing-masing 26 orang, sehingga jumlah total adalah 52 orang. Masing-masing dilakukan *matching* pada variabel jenis kelamin dan kelompok

umur, sehingga jumlah penderita alergi maupun kontrol memiliki karakteristik jenis kelamin dan kelompok umur yang sama. Penderita perempuan didapatkan lebih banyak dibandingkan laki-laki dengan rasio 1,88 : 1. Sedangkan berdasarkan kelompok umur didapatkan kelompok umur 26 – 30 tahun yaitu 11 orang (42,3%), kemudian kelompok umur 31 – 35 tahun 4 orang (15,4%), kelompok umur 36 – 40 tahun 3 orang (11,5%), kelompok umur 26 – 30 tahun, 41 – 45 tahun, dan 46 – 50 tahun masing-masing 2 orang (7,7%). Kelompok umur < 20 tahun, 21 – 25 tahun, 51 – 55 tahun dan 56 – 60 tahun masing-masing 1 orang (3,8%). (Tabel 1)

Pada 26 orang penderita alergi, didapatkan 15 orang (57,9%) memiliki manifestasi rhinitis alergi, sedangkan 13 orang (50%) menderita asma bronchial dan 12 orang (46,15%) menderita dermatitis alergi (Tabel 2). Dari 26 orang ini 15 orang (57,9%) memiliki manifestasi alergi lebih dari satu, sedangkan 11 (42,31%) orang hanya memiliki manifestasi penyakit alergi tunggal. (Tabel 3)

Tabel 2. Manifestasi klinis pada kelompok penderita alergi

| Manifestasi alergi | Jumlah penderita | Persentase (%) |
|--------------------|------------------|----------------|
| Asma bronchial | 13 | 50% |
| Rinitis alergi | 15 | 57,9% |
| Dermatitis alergi | 12 | 46,5% |

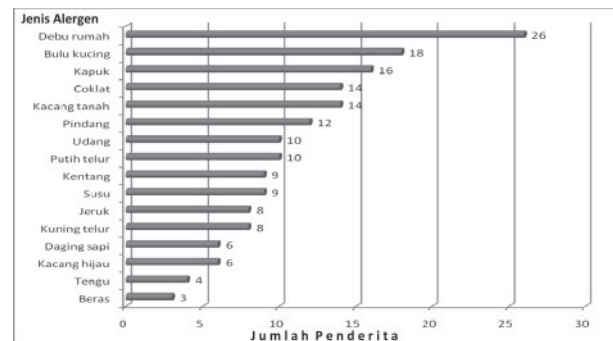
Tabel 3 Banyaknya manifestasi klinis penyakit alergi

| Banyaknya manifestasi klinis | Jumlah | Persentase (%) |
|------------------------------|--------|----------------|
| Tunggal | 11 | 42,31% |
| Lebih dari satu | 15 | 57,69% |

Dari 19 alergen yang digunakan dalam testusuk kulit tampak bahwa alergen hirup memberikan hasil positif yang lebih banyak. Debu rumah menempati urutan pertama dimana seluruh penderita alergi memberikan hasil yang positif (100%). Disusul kemudian dengan alergen bulu

kucing yang memberikan hasil positif pada 18 orang (69,23%), dan alergen kapuk positif pada 16 orang (61,53%). Alergen makanan yang memberikan hasil positif terbanyak adalah coklat dan kacang tanah yaitu masing-masing 14 orang (53,85%) dan pindang yaitu 12 orang (46,15%). Hasil tes tusuk kulit selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada kelompok penderita alergi didapatkan serologi *Helicobacter pylori* positif pada 19 orang (73,08%) dan negative pada 7 orang (26,92%). Sedangkan pada kelompok kontrol didapatkan serologi *Helicobacter pylori* positif pada 21 orang (80,77%) dan negatif pada 5 orang (19,23%). Secara keseluruhan pada sampel penelitian baik penderita alergi maupun kontrol didapatkan serologi *Helicobacter pylori* positif pada 40 orang (76,92%) dan negatif pada 12 orang (23,08%). (Tabel 4)



Gambar 2. Jumlah positif masing-masing alergen pada tes tusuk kulit penderita alergi

Tabel 4. Prevalensi serologi *Helicobacter pylori* pada seluruh sampel penelitian

| | Alergi | Kontrol | Jumlah total |
|---------------------|--------|---------|--------------|
| IgG anti Hp positif | 19 | 21 | 40 (76,92%) |
| IgG anti Hp negatif | 7 | 5 | 12 (23,08%) |

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 26 pasang kelompok kasus dan kontrolnya, setelah masing-masing pasangan dilakukan *matching* kelompok umur dan jenis kelamin (Tabel 5).

Tabel 5. Asosiasi antara penyakit alergi dengan IgG anti Hp

| | Alergi | Kontrol | Jumlah |
|---------------------|--------|---------|--------|
| IgG anti Hp positif | 19 | 21 | 40 |
| IgG anti Hp negatif | 7 | 5 | 12 |
| Jumlah | 26 | 26 | 52 |

Selanjutnya dari 26 pasangan tersebut, terdapat 15 pasangan penderita alergi dan penderita kontrol dengan IgG anti Hp positif, 4 pasangan penderita alergi dengan IgG anti Hp positif ditambah penderita kontrol IgG anti Hp negatif, 6 pasangan penderita alergi dengan IgG anti Hp negatif ditambah penderita kontrol IgG anti Hp positif dan 1 pasangan penderita alergi dan penderita kontrol dengan IgG anti Hp negatif (Tabel 6). OR pada studi kasus-kontrol dengan *matching* ini dihitung dengan mengabaikan sel A karena baik kasus maupun kontrol sama-sama terpapar IgG anti Hp, juga mengabaikan sel D karena baik kasus maupun kontrol didapatkan IgG anti Hp negatif. Dengan demikian maka $OR = B/C$. Dari penelitian ini didapatkan OR sebesar 0,67 (95% CI 0,02 – 8,85), artinya serologi *Helicobacter pylori* mempunyai faktor protektif terhadap penyakit alergi sebesar 0,67.

Tabel 6. Perhitungan OR untuk studi kasus-kontrol dengan *matching*

| | Kelompok kontrol dengan IgG anti Hp positif | Kelompok kontrol dengan IgG anti Hp negatif | Jumlah |
|---|---|---|--------|
| Pelompok kasus dengan IgG anti Hp positif | 15 | 4 | 19 |
| Kelompok kasus dengan IgG anti Hp negatif | 6 | 1 | 7 |
| Jumlah | 21 | 5 | 26 |

$$OR = 4/6 = 0,67 \text{ (95\% CI 0,02-8,85)}$$

PEMBAHASAN

Dari penelitian ini didapatkan OR sebesar 0,67 (95% CI 0,02 – 8,85), artinya secara epidemiologis serologi *Helicobacter pylori* yang positif mempunyai faktor protektif terhadap penyakit alergi sebesar 0,67. Penderita dengan IgG anti Hp positif memiliki risiko 0,67 kali untuk menderita penyakit alergi dibandingkan penderita dengan IgG anti Hp negatif. OR walaupun tidak sama dengan risiko relatif tetapi dapat digunakan sebagai indikator adanya hubungan sebab akibat antara faktor risiko dengan efek. Pada nilai OR lebih dari satu dapat diinterpretasikan bahwa faktor yang diteliti merupakan faktor risiko, sedangkan pada nilai OR kurang dari satu memberikan arti bahwa faktor yang diteliti merupakan faktor protektif.

Pada penelitian Shiotani⁴ di Jepang mendapatkan adanya hubungan signifikan antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan penyakit alergi dengan OR 0,60 (95% CI 0,40 – 0,90). Namun analisis pada penderita perempuan tidak didapatkan hubungan yang signifikan antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan penyakit alergi dengan OR 0,72 (95% CI 0,41 – 1,3; $p = 0,27$). Herbath¹¹ juga mendapatkan hubungan signifikan antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan penyakit alergi dan dermatitis alergi (OR 0,31; $p = 0,006$). Sedangkan penelitian Matricardi³ juga mendapatkan hubungan yang signifikan antarinfeksi *Helicobacter pylori* dengan penyakit alergi (OR 0,76; CI 0,47–1,24).

Penelitian Yu Chen¹² pada 7663 dewasa usia 20 – 59 tahun mendapatkan bahwa infeksi *H.pylori* terutama strain CagA⁺ berhubungan dengan penurunan risiko asma dan alergi (OR 0,79; 95% CI 0,63 – 0,99). Pada penelitian ini yang digunakan adalah strain CagA⁺ yang mencerminkan patogenisitas *Helicobacter pylori*.

Infeksi *Helicobacter pylori* sebagai faktor protektif penyakit alergi sesuai dengan hipotesis higiene bahwa infeksi pada masa kanak-kanak

dapat menekan penyakit alergi dan autoimun. Beberapa mekanisme yang mendasari hipotesis tersebut antara lain infeksi bakteri tertentu dapat mempengaruhi keseimbangan antara respon Th1 dan Th2 sehingga menurunkan dominasi penyakit alergi yang dimediasi Th2.^{7,13,14} Infeksi tertentu juga dapat meningkatkan produksi IL-10 yang memiliki sifat antialergi dan dapat menekan eosinofil yang diaktivasi lipopolisakarida pada model penyakit alergi. Antigen bakterial ternyata juga dapat berkompetisi dengan antigen lingkungan yang bertanggung jawab pada kondisi atopi. Komponen produk bakteri juga dapat bekerja sebagai superantigen, yang secara selektif menginduksi aktivasi baru atau hilangnya subset sel T yang spesifik.⁷ Selain itu dewasa ini juga dibuktikan adanya reseptor untuk komponen bakteri pada sel mononuklear yaitu *Toll Like Receptor* (TLR) dapat memberi sinyal untuk produksi sitokin-sitokin immunosupresan.¹⁵⁻¹⁸

Pada penelitian ini serologi *Helicobacter pylori* mempunyai faktor protektif terhadap penyakit alergi, namun masih ada beberapa kelemahan penelitian dimana pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan investasi cacing dan pemeriksaan serologi penyakit lain (seperti Hepatitis A dan *Toxoplasma gondii*) yang dapat mempengaruhi keseimbangan Th1-Th2.

KESIMPULAN

Prevalensi infeksi *Helicobacter pylori* berdasarkan pemeriksaan serologi pada seluruh sampel penelitian adalah 76,92%, kelompok penderita alergi adalah 73,08%, dan pada kelompok kontrol 80,77%. Terdapat asosiasi negative antara penyakit alergi atopi dengan IgG anti Hp, dimana IgG anti Hp merupakan factor protektif terjadinya penyakit alergi atopi dengan OR = 0,67 (95% CI 0,02 – 8,85). Artinya penderita IgG anti Hp positif memiliki risiko 0,67 kali disbanding penderita IgG anti Hp negatif untuk menderita penyakit alergi atopi.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO. Prevention of allergy and allergic asthma. Proceedings of Joint meeting World Health Organization and World Allergy Organization; 8-9 January 2002, Geneva, Switzerland.
2. Effendi C. Prevention and management allergic diseases. Proceedings of Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Ilmu Penyakit Dalam XXI, 11-12 Agustus 2006, Surabaya, Indonesia.
3. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, Ferrigno L, Rapicetta M, et al. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ* 2000;320:412-7.
4. Hardin FJ, Wright RA. *Helicobacter pylori*: Review and update. *Hospital Physician* 2002;26:23-31.
5. Linneberg A, Ostergaard C, Tvede M, Andersen LP, Nielsen NH, Madsen F. IgG antibodies against microorganisms and atopic disease in Danish adults: The Copenhagen Allergy Study. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:847-53.
6. Janson C, Asbjornsdottir H, Birgisdottir A, Sigurjonsdottir RB, Gunnbjornsdottir M, Gislason D. The effect of infectious burden on the prevalence of atopy and respiratory allergies in Iceland, Estonia and Sweden. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:673-9.
7. Cremonini F, Gasbarini A. Atopy, *Helicobacter pylori* and the hygiene hypothesis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:635-6.
8. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002;347:1175-86.
9. Kusumobroto H. *Helicobacter pylori* infection from molecular biology to clinical practice. Proceedings of Pendidikan Kedokteran

- Berkelanjutan Ilmu Penyakit Dalam; September 2002, Surabaya, Indonesia.
10. Firmanto A. Asosiasi pemakaian MCK pribadi dan umum dengan seropositivitas *Helicobacter pylori* pada penderita dispepsi di Desa Panggul Kecamatan Panggul Kabupaten Trenggalek. Karya akhir Lab/SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Unair-RSU Dr. Soetomo Surabaya. 2003. (Tesis)
 11. Herbarth O, Bauer M, Fritz G, Herbarth P, Kampczyk UR, Krumbiegel P. *Helicobacter pylori* colonization and eczema. *J Epidemiol Community Health* 2007;61:638-40.
 12. Chen Y, Blaser MJ. Inverse associations of *Helicobacter pylori* with asthma and allergy. *Arch Intern Med* 2007;167:821-7.
 13. Elston DM. The hygiene hypothesis and atopy: Bring back the parasites. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:172-9.
 14. Vercelli D. Mechanisms of the hygiene hypothesis-molecular and otherwise. *Current Opinion in Immunology* 2006;18:733-7.
 15. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 2002;347:911-9.
 16. Hopkins PA, Sriskandan S. Mammalian Toll-like receptors: to immunity and beyond. *Clin Exp Immunol* 2005;40:395-407.
 17. Schaub B, Lauener R, von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:969-77.
 18. Von Mutius E. Allergies, infections and the hygiene hypothesis, the epidemiological evidence. *Immunobiology* 2007;212:433-9.