

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LARA CARDOSO RABELLO

**EXPOSIÇÃO ANTIGÊNICA A *Toxocara* spp. EM PACIENTES COM
ARTRITE REUMATOIDE**

UBERLÂNDIA

2023

LARA CARDOSO RABELLO

**EXPOSIÇÃO ANTIGÊNICA A *Toxocara* spp. EM PACIENTES COM
ARTRITE REUMATOIDE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia a ser utilizado como requerimento obrigatório para integralização curricular.

Orientador: Rodrigo Rodrigues Cambraia de Miranda

Uberlândia

2023

RESUMO

Os geohelmintos são parasitos transmitidos pelo solo que infectam animais e o ser humano. O gênero *Toxocara* spp., é responsável pela toxocaríase, afeta cães e gatos e ocasionalmente o homem e é prevalente em crianças e populações com baixas condições socioeconômicas. A toxocaríase pode acometer indivíduos imunologicamente comprometidos, dentre estes, os portadores de artrite reumatoide (AR). A AR pode afetar várias articulações e geralmente inicia-se entre os 30 e 40 anos, sendo predominante em pessoas do sexo feminino. A hipótese da higiene propõe que a falta de exposição aos parasitos e a outros patógenos resulta em um sistema imune cronicamente desbalanceado e hiperativo, o que provavelmente contribui para o surgimento de alergias, condições metabólicas desbalanceadas e doenças autoimunes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a exposição antigênica pela detecção de anticorpos em pacientes portadores de artrite reumatoide para *Toxocara* spp. utilizando proteínas recombinantes rTES26 e rCTL4 para detectar a Imunoglobulina G e comparar a condição clínica entre os pacientes com artrite reumatoide expostos e não expostos a *Toxocara* spp. com os *scores* clínicos dos pacientes de acordo com o questionário HAQ. No presente estudo, foi possível detectar que os pacientes que apresentaram IgG contra o parasito possuíam um *score* HAQ menor quando comparados aos pacientes cujas amostras séricas não apresentavam IgG anti-*T. canis*.

Palavras-chave: Geohelmintos, Hipótese da Higiene, Doenças Autoimunes, Proteínas Recombinantes, Epidemiologia, ELISA.

ABSTRACT

Geohelminths are soil-transmitted parasites that infect animals and humans. The genus *Toxocara* spp., is responsible for toxocariasis, affects dogs and cats and occasionally humans and is prevalent in children and populations with low socioeconomic conditions. Toxocariasis can affect immunologically compromised individuals, including those with rheumatoid arthritis (RA). RA can affect several joints and usually starts between the ages of 30 and 40, being predominant in females. The hygiene hypothesis proposes that lack of exposure to parasites and other pathogens results in a chronically imbalanced and overactive immune system, which likely contributes to the onset of allergies, imbalanced metabolic conditions, and autoimmune diseases. The objective of this work was to evaluate the antigenic exposure by detection of antibodies in patients with rheumatoid arthritis for *Toxocara* spp. using recombinant proteins rTES26 and rCTL4 to detect Immunoglobulin G and compare the clinical condition between patients with rheumatoid arthritis exposed and not exposed to *Toxocara* spp. with the patients' clinical scores according to the HAQ questionnaire. In the present study, it was possible to detect that patients who presented IgG against the parasite had a lower HAQ score when compared to patients whose serum samples did not present IgG anti-*T. canis*.

Keywords: Soil-transmitted helminths (STHs), Hygiene Hypothesis, Autoimmune Diseases, Recombinant Proteins, Epidemiology, ELISA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Índice de reatividade de anticorpos IgG contra antígenos de <i>T. canis</i>	12
Figura 2: Relação entre <i>score</i> total no HAQ e presença de anticorpos IgG anti- <i>T. canis</i>	13
Figura 3: Diferença entre os pacientes com e sem exposição antigênica ao <i>T. canis</i> em relação aos <i>scores</i> do HAQ de cada categoria.....	13

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo Geral.....	8
2.2. Objetivos Específicos.....	8
3. METODOLOGIA.....	8
3.1. População do estudo e aspectos éticos.....	8
3.2. Questionário social e econômico	9
3.3. Health Assessment Questionnaire (HAQ)	9
3.4. Obtenção e codificação de amostras	10
3.5. Proteínas recombinantes (rTES26 e rCTL4)	10
3.6. Detecção de Imunoglobulina G (IgG).....	10
3.7. <i>Scores</i> clínicos dos pacientes	11
3.8. Análise Estatística	11
3.9. Índice de Reatividade (IR)	11
4. RESULTADOS	12
5. DISCUSSÃO	14
6. CONCLUSÕES.....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

1. INTRODUÇÃO

Os helmintos são invertebrados eucariontes com morfologia achatada ou cilíndrica pertencentes aos filos Plathelminthes, Nematoda, Acanthocephala e Nematomorpha. A maior parte das espécies helmínticas são de vida livre, entretanto, as espécies com o hábito de vida parasitário são as mais estudadas. Os geohelmintos, por sua vez, são helmintos transmitidos pelo solo e que se desenvolvem, preferencialmente, em ambientes quentes e úmidos de países tropicais e subtropicais. Eles infectam animais e o ser humano através de ovos embrionados por via fecal oral ou pela infecção percutânea da larva L3. (BETHONY et al., 2006)

Quando adultos, os geohelmintos podem viver por anos no trato gastrointestinal do seu hospedeiro definitivo. Apesar da importância educacional, econômica e de saúde pública, eles continuam negligenciados pelas autoridades (BETHONY et al., 2006). A incidência de infecções geohelmínticas, particularmente entre as populações humanas pobres que vivem em países de baixa e média renda, continua a ser um grande problema de saúde pública. (OJHA et al., 2014)

O parasito *Toxocara* spp. é responsável pela zoonose conhecida como toxocaríase, que afeta ocasionalmente o homem. São parasitos gastrointestinais que possuem como hospedeiros definitivos cães e gatos e apresentam distribuição global (FELIX et al., 2020). As fêmeas fazem a postura dos ovos, que contêm apenas uma célula, os ovos saem nas fezes e o parasito se desenvolve até a larva de terceiro estágio (L3) dentro do ovo. Estes hospedeiros se infectam de quatro maneiras: via oral, via transplacentária, via transmamária e via hospedeiros paratênicos, como roedores e aves (MARTINS, 2019). Os humanos são hospedeiros paratênicos do *Toxocara* spp. e diversos casos da toxocaríase ocorrem pela ingestão de ovos embrionados no solo ou pela larva infectante encontrada em carnes mal-cozidas (STRUBE; HEUER; JANECEK, 2013).

Ao serem ingeridos pelo homem, as larvas de *Toxocara* spp. eclodem do ovo, atravessam a parede do intestino delgado e ganham a circulação pela via hepática, migrando por diversos órgãos como fígado, pulmão, olhos, coração e cérebro. A toxocaríase humana é uma zoonose muito difundida e uma das mais importantes em questões econômicas e de saúde pública. A espécie mais comum entre cães e caninos selvagens é o *Toxocara canis*, já em ambientes com número elevado de gatos, *Toxocara cati* realiza um importante papel na toxocaríase humana. Sendo assim, faz-se importante a criação de programas de controle da população destes animais domésticos e em educação sobre saúde pública (SUDAN et al., 2022).

Nos humanos, a doença pode se manifestar em diversos sintomas clínicos como a larva migrans visceral, larva migrans ocular, neurotoxocaríase e toxocaríase comum. A toxocaríase é prevalente em crianças e populações com baixas condições socioeconômicas. A prevalência global de *Toxocara* spp. é influenciada por fatores como o ambiente, a economia, a imunidade, a nutrição e o comportamento. As crianças são mais susceptíveis devido ao contato próximo com animais, com o solo e pelo menor conhecimento sobre higiene. A toxocaríase é um grande problema de saúde pública e é muito prevalente em países tropicais e subtropicais. Seu controle beneficiaria a saúde humana, a de animais de companhia e de produção. (MACPHERSON, 2013).

Alguns estudos determinaram a soroprevalência da toxocaríase no Brasil. Um estudo em Campinas encontrou que a incidência da doença em crianças de 2-12 anos foi de 10.4 casos a cada 100 crianças (FIALHO, et al., 2020). Outro estudo transversal realizado por Campos Júnior et. al (2003) indicou uma diferença significativa entre a soroprevalência de toxocaríase em crianças de acordo com sua origem geográfica. Crianças de vizinhanças pobres de Brasília tiveram uma maior prevalência (21.8%) do que crianças que viviam em áreas mais favorecidas (3.0%).

Outro fator de grande importância da toxocaríase humana na saúde pública é o acometimento da doença em indivíduos imunologicamente comprometidos. Dentre estes estão os portadores de artrite reumatoide (AR) por ser uma doença de caráter progressivo, crônico e que utiliza em seu tratamento imunossuppressores. Como uma das doenças autoimunes mais comuns, a AR é caracterizada por distúrbios inflamatórios crônicos sistêmicos que afetam principalmente as articulações diartrodiais simétricas e, conseqüentemente, destroem os tecidos. A AR envolve predominantemente o tecido sinovial e é mediador de uma inflamação grave, levando à incapacidade funcional e, potencialmente, à morte (APAER et al., 2016).

A AR pode afetar várias articulações, sua causa é desconhecida, inicia-se geralmente entre 30 e 40 anos e é predominante em pessoas do sexo feminino. Os sintomas mais comuns são dor, edema, calor e vermelhidão em qualquer articulação do corpo. O tratamento da AR consiste no uso de imunossuppressores, através de substâncias conhecidas como medicamentos modificadores do curso da doença (MMCDs). Uma vez que essas medicações também interferem nos processos fisiológicos da imunidade é possível que elas provoquem aumento no risco de infecções em diversos cenários (GEORGE et al., 2020). Esta imunossupressão causada tanto pela doença quanto pelo tratamento pode ser um fator que predispõe os pacientes com doenças reumatológicas autoimunes às infecções helmínticas.

Por outro lado, a hipótese da higiene propõe que a falta de exposição aos parasitos e a outros patógenos resulta em um sistema imune cronicamente desbalanceado e hiperativo que provavelmente contribui para o aumento de alergias, condições metabólicas desbalanceadas e doenças autoimunes em nível mundial (CORBET et al., 2021). Devido a coevolução, o desenvolvimento do sistema imune humano normal provavelmente se tornou dependente da presença de helmintos imunomoduladores e de suas contrapartes microbianas e, com o aumento da higiene em sociedades modernas, as infecções por helmintos diminuíram e as alergias e doenças autoimunes aumentaram (ZHANG; GEMS, 2021). É importante salientar que a higiene envolve diversos fatores e não só a higiene pessoal. A migração da zona rural para a urbana, o aumento do saneamento, o acesso a água limpa, o controle da produção de alimentos e até mesmo as campanhas de vacinação, contribuíram para reduzir o contato com esses microrganismos ancestrais nos quais os mamíferos coexistiram e coevoluíram por milênios (VERSINI et al., 2015).

Acredita-se que patógenos, parasitos e microrganismos comensais nos protegem contra uma variedade de condições autoimunes, induzindo uma resposta eficiente no organismo. Assim, possivelmente com a presença de antígenos de helmintos, as doenças autoimunes e as alergias diminuiriam (BACH, 2018). Por isso, é necessário que ocorra um esclarecimento do papel desses patógenos nessas condições.

Entre outros agentes infecciosos, os parasitos são importantes manipuladores e reguladores do sistema imune. Eles secretam uma variedade de moléculas imunomoduladoras que possuem a habilidade de mirar em várias células hospedeiras e têm a capacidade de modular diretamente as funções imunológicas do hospedeiro (SMITS et al., 2010). Diversos helmintos secretam moléculas com habilidade de aumentar a tolerância do nosso sistema imune. Os produtos destes helmintos agem nas células T, B e nas células dendríticas e o seu principal mecanismo para modelar o sistema imune consiste na troca de uma resposta predominantemente regulada por células Th1 para Th2. (BASHI et al., 2015).

A resposta imunológica em pacientes com AR está associada com a participação de células T auxiliares do tipo 1 (Th1) mas, um desvio na resposta imune para o predomínio de células T auxiliares do tipo 2 (Th2), decorrente da exposição crônica a helmintos, conseguiria modular a inflamação em doentes com AR e levaria a menor gravidade e menor dano articular (OLIVEIRA et al., 2017). O produto de excreção e secreção dos parasitos pode reprogramar a resposta das células hospedeiras e um melhor entendimento da interação hospedeiro-patógeno e das vias de modulação da ação anti-inflamatória proporcionada pela infecção por helmintos

pode levar a novas estratégias terapêuticas e ampliação do arsenal terapêutico atualmente disponível para AR.

Para diagnósticos e estudos de exposição antigênica, a imunoglobulina G (IgG) vem sendo amplamente utilizada em várias infecções e, potencialmente, pode ser usada para imunodiagnóstico de toxocaríase. Em infecções humanas por *Toxocara canis*, há uma associação entre alta avidéz de IgG na fase crônica e baixa avidéz de IgG na toxocaríase adquirida recentemente. (FENOY et al., 2008). A utilização do IgG em estudos de exposição antigênica identifica, principalmente, os pacientes que foram expostos ao *Toxocara canis* há mais tempo. A infecção humana é caracterizada pela persistência a longo prazo de anticorpos IgG específicos, o que não permite a determinação do estágio da doença (KANEVA et al., 2022).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Detectar IgG anti *Toxocara* spp. em soros de pacientes com artrite reumatoide e verificar se há diferença na condição clínica de acordo com a exposição antigênica

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Padronizar as reações imunoenzimáticas por ELISA com antígenos recombinantes de *Toxocara canis* (rCTL4 e rTES26)

2.2.2. Determinar os pacientes expostos e não expostos ao *Toxocara* spp.

2.2.3. Comparar a condição clínica entre os pacientes com artrite reumatoide expostos e não expostos ao *Toxocara* spp.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. População do estudo e aspectos éticos

No período de quatro meses foram realizadas entrevistas individuais com pessoas portadoras de artrite reumatoide, atendidas pelo Serviço de Reumatologia do Hospital de

Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). A entrevista foi realizada em etapas. Inicialmente, foi fornecido um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) juntamente com uma explicação oral sobre a pesquisa. Os pacientes que concordaram em participar do estudo leram e assinaram o mesmo. Em seguida, foi utilizado um questionário simples e de fácil entendimento sobre as condições sociais e econômicas do paciente. Por fim, utilizou-se um segundo questionário para coletar informações sobre a sua condição clínica por meio do instrumento conhecido como *Health Assessment Questionnaire* (HAQ).

Os pacientes com artrite reumatoide foram divididos entre maiores e menores de 18 anos. Aqueles com mais de 18 anos de idade, após aceitarem participar da pesquisa, assinaram o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) (Anexo 1), consentindo com a doação do material biológico. Os pacientes menores de 18 anos, ao aceitarem participar do projeto, assinaram o TALE (Termo de Assentimento Livre e Esclarecido) (Anexo 2), e os seus responsáveis assinavam o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) (Anexo 3). Este trabalho foi submetido ao comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia via Plataforma Brasil (<https://plataformabrasil.saude.gov.br/login.jsf>) e aprovado pelo parecer substanciado número: 5.820.607.

3.2. Questionário social e econômico

Foi aplicado um questionário simples e de fácil entendimento visando obter dados básicos como faixa etária e informações específicas como região e cidade de sua moradia, profissão, contato com animais e utilização de anti-helmínticos (Anexo 4). Todos os pacientes foram entrevistados para coleta destas informações.

3.3. *Health Assessment Questionnaire* (HAQ)

O *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) é um instrumento mundialmente usado para avaliar a capacidade funcional nos pacientes com artrite reumatoide. O HAQ foi originalmente desenvolvido em 1978 por James F. Fries e colaboradores na Universidade Stanford (Estados Unidos) e foi uma das primeiras medidas de autoavaliação funcional de deficiências (FRIES et al., 1980) (Anexo 5). Todos os pacientes foram entrevistados para coleta destas informações.

3.4. Obtenção e codificação de amostras

Para obtenção das amostras de soro, foi realizada coleta de sangue de forma individual em tubos a vácuo de vidro de 9 mL, que continham o código de cada paciente, e mantidas em refrigeração até o processamento. Em seguida, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Diagnóstico, Epidemiologia e Controle de Helminhos (LADECH) do Departamento de Parasitologia do ICBIM/UFU e processadas, ao final de cada dia de coleta, seguindo-se um protocolo padronizado. Cada amostra foi centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos para separar o coágulo e o soro. Este foi coletado e distribuído em microtubos de polipropileno em alíquotas de 100 µL. Os microtubos foram identificados e armazenados em temperatura de -20° C e -80° C e o coágulo foi descartado.

3.5. Proteínas recombinantes (rTES26 e rCTL4)

Para a realização do imunodiagnóstico pela técnica de ELISA, foram utilizadas proteínas recombinantes expressadas em bactérias (rTES26 e rCTL4) cedidas pela Dra. Carina Pinheiro do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. Essas proteínas foram testadas previamente e quando combinadas apresentaram 100% de sensibilidade e especificidade. Para a obtenção das proteínas, as sequências de codificação do TES26 foram sintetizadas e clonadas em vetor Pd444-CH pela empresa DNA 2.0 (Newark, EUA). As sequências de CTL4 foram codificadas, sintetizadas e clonadas no vetor Pet – 28 a (+). A eluição das proteínas recombinantes foi realizada com o tampão Tris 20 Mm e imidazol 300-400 mM. As frações contendo as proteínas recombinantes purificadas foram combinadas e dialisadas com PBS. As concentrações de proteína foram determinadas com o método de Bradford e o processo de purificação foi avaliado por Western Blotting.

3.6. Detecção de imunoglobulina G (IgG)

Todas as amostras foram submetidas ao teste imunoenzimático de ELISA indireto, buscando identificar anticorpos do tipo IgG sérico total contra o parasito *Toxocara* spp. A placa foi sensibilizada com 2,25 µg de rTES26 e 2,25 µg rCTL4 por poço, diluídos em tampão carbonato de sódio. Cada poço foi sensibilizado com 100 µL de solução e a placa incubada a 4°C *overnight*. Posteriormente, a placa foi lavada quatro vezes utilizando-se PBS com 0,05% de Tween®20 e bloqueada com 200 µL por poço com leite desnatado Molico® e PBS Tween®20 0,05% e incubada a 37°C por uma hora. Em seguida, a placa foi lavada quatro vezes

com PBS Tween®20 0,05% e o soro adicionado em duplicatas no volume final de 100 µL diluído 1:100 em PBS Tween®20 0,05%. A placa foi incubada a 37°C por uma hora e lavada novamente da mesma forma. Foi adicionado, em seguida, 100 µL do conjugado (concentração 1:4000) diluído em PBS Tween®20 0,05% molico®1%. A placa foi incubada a 37°C e, posteriormente, lavada seguindo as mesmas condições anteriores. Por fim, foi colocado 100 µL de OPD (concentração 650 µL/ml) acrescido 8 µL de peróxido de hidrogênio em cada poço. A placa foi abrigada da luz com o auxílio de papel alumínio por 15 minutos e, em seguida, foi adicionado 50 µL de solução de parada (H₂SO₄ 2 M em água MILI-Q). As absorbâncias foram obtidas em leitor de ELISA (BIOTEK) a 490 nm. Os resultados foram obtidos a partir da média das duplicatas dos soros dos pacientes e o *cut off* foi obtido a partir da média dos soros negativos acrescido de duas vezes o seu desvio padrão.

3.7. Scores clínicos dos pacientes

Os *scores* do questionário HAQ foram calculados por categoria. Nas categorias com dois tópicos, foi realizado a média de ambos e nas categorias com três tópicos, foi realizado a média dos três, desconsiderando o resultado maior. Assim, foi calculado a média para cada categoria e a média total.

3.8. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad 8.0 com os *scores* de cada grupo experimental. Inicialmente, a distribuição dos dados foi avaliada utilizando os testes de Anderson-Darling, D'Agostino & Pearson, Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov. Em seguida, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação entre dois grupos experimentais. As diferenças entre os grupos IgG positivo e IgG negativo com valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.9. Índice de Reatividade (IR)

O Índice de Reatividade (IR) é a reatividade do soro em relação ao *cut off*. O IR é calculado dividindo a média de absorbância de cada amostra pelo *cut off*. Índices de reatividade acima de 1,0 foram considerados positivos para anticorpo IgG sérico total anti-*Toxocara* spp.

4. RESULTADOS

Foram analisados soros de quarenta pacientes portadores de artrite reumatoide, nos quais, seis (15%) apresentaram resposta de IgG contra *T. canis*. Em relação aos dados socioeconômicos, todos os pacientes positivos eram da zona urbana, apresentaram a média de faixa etária de 52 anos e apenas um paciente fez uso de anti-helmíntico nos últimos 6 meses do presente estudo.

A partir da absorbância obtidas do ELISA, foi calculado o IR de cada amostra. Valores maiores que 1.0 são considerados positivos. Seis pacientes tiveram o IR maior que 1.0, indicando que apresentam IgG contra *T. canis* (Figura 1).

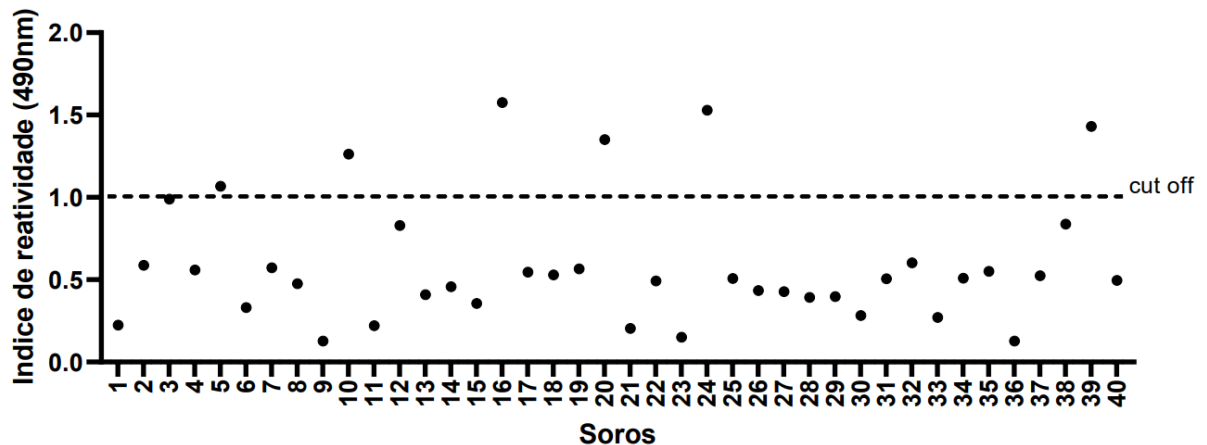


Figura 1: Índice de reatividade de IgG contra antígenos de *T. canis* indicando a detecção de IgG em soros de pacientes com artrite reumatoide

Os pacientes que apresentaram IgG contra o parasito (IgG +) possuíam um *score* HAQ menor quando comparados aos pacientes cujas amostras séricas não apresentavam IgG anti-*T. canis* (IgG -) (Figura 2). Pacientes com *score* HAQ menor apresentam um menor grau de alterações clínicas.

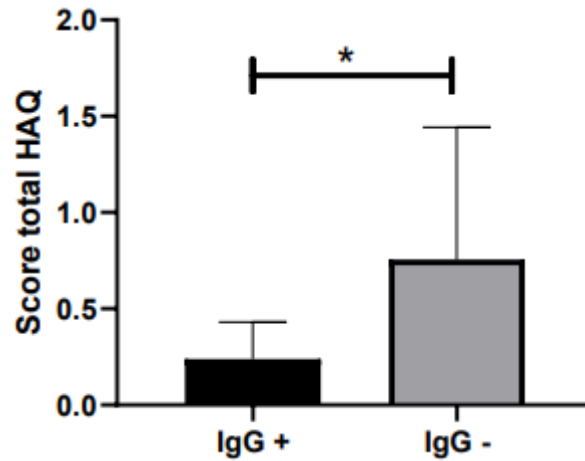


Figura 2: *Score* total no HAQ e presença de anticorpos IgG anti-*T. canis* no soro dos pacientes com artrite reumatoide ($*p = 0.0354$) ($U = 47$)

De acordo com os *scores* individuais, foi perceptível uma diferença significativa entre pacientes IgG+ e IgG- em duas categorias. Quanto a capacidade de caminhar e a capacidade de alcançar objetos, os pacientes com IgG anti-*T.canis* obtiveram um *score* menor.

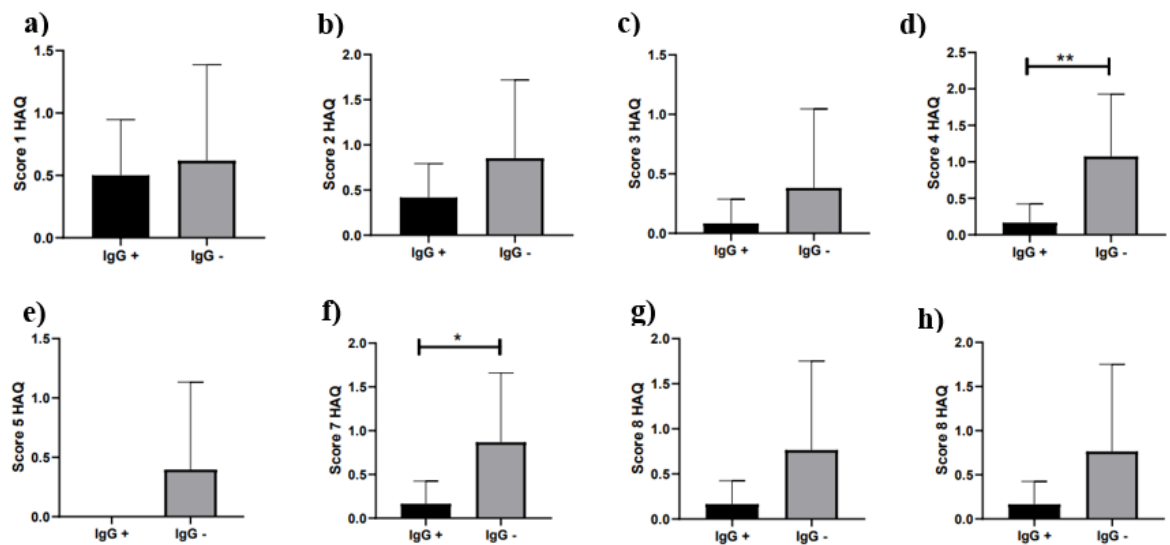


Figura 3: Pacientes com e sem exposição antigênica ao *T. canis* em relação aos *scores* do HAQ de cada categoria avaliada no questionário sobre a condição clínica dos pacientes com artrite reumatoide. Em d), relativo à capacidade de caminhar ($**p=0.0082$) ($U = 34$); em f), relativo à capacidade de alcançar objetos($*p=0.0299$) ($p<0,05$) ($U = 46$). Os gráficos a), b), c), e), g) e h) relativos a vestir-se e cuidar-se, levantar-se, comer, higiene, apreensão e outras atividades, respectivamente, não apresentaram diferença significativa.

5. DISCUSSÃO

É perceptível que a incidência de alergias e doenças autoimunes em países ocidentais vem aumentando nas últimas décadas. De acordo com a Hipótese da Higiene, a melhora nas condições sanitárias reduziu a exposição de infecções e, conseqüentemente, prejudicou a habilidade do sistema imune de desenvolver respostas fracionadas. As taxas decrescentes de infecções por helmintos, provavelmente, contribuem para esse fenômeno (SHOR; SHOENFELD, 2013). Neste trabalho verificamos que pacientes com menor exposição antigênica apresentam um pior quadro clínico de AR.

A utilização das proteínas recombinantes rTES26 e rCTL4 evitam que ocorra reações cruzadas com outros helmintos. Geralmente é utilizado o TES de larvas de *T. canis* como antígeno, mas as chances de reação cruzada com esse antígeno são grandes. A técnica de ELISA utilizando IgG4 mostrou ser mais eficaz e com o índice de sensibilidade que varia de 88.8% a 98.3%. Além disso, utilizando o rTES26 e rCTL4, a combinação chegou a 100% (DA SILVA et al., 2022). No presente trabalho, utilizou-se a combinação de rTES26 e rCTL4 para observar a exposição antigênica anti-*T. canis* utilizando IgG em pacientes com AR.

As células T assumem o papel principal na modulação de muitas doenças autoimunes, incluindo a AR. As células Th1 produzem citocinas pró-inflamatórias (TNF α , IFN- γ e IL-12) e medeiam respostas pró-inflamatórias durante uma doença autoimune. As células Th2 secretam citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) e participam da prevenção ou remissão de doenças autoimunes mediadas por Th1. A maioria dos infectados com helmintos tem redução de IFN- γ e aumento de IL-4/IL-10 que sugerem um fenótipo Th2 predominante e propício à sobrevivência do parasito e à saúde do hospedeiro (BASHI et al., 2015). No presente estudo, 85% dos portadores de AR não foram expostos ao *T. canis* e, possivelmente, não possuem o fenótipo Th2 como os pacientes que foram expostos ao anti-*T. canis*, sugerindo que possuem a AR com menor severidade clínica.

Em um estudo utilizando ratos, a infecção por *T. canis* modulou significativamente a resposta imune ao aliviar as citocinas inflamatórias e aumentar o TGF- β como uma citocina anti-inflamatória e as avaliações do inchaço da artrite mostraram baixa gravidade e recuperação mais rápida (SHAYESTEH et al., 2020). No presente estudo, 85% dos pacientes testaram negativo para a exposição antigênica a *Toxocara* spp., podendo ser um indicativo favorável à hipótese da higiene.

Nas últimas décadas, ocorreram progressivas modificações do sistema de defesa humano após mudanças nas relações entre a interface do nosso corpo e o ambiente externo, o que pode

provocar ou agravar estados de doença. Diversos microrganismos que compõe a microbiota intestinal, influenciam as respostas imunes inatas e adaptativas e podem afetar as doenças reumáticas (CASTRO ROCHA et al., 2020). Os 15% dos pacientes que testaram positivo para a exposição a *Toxocara* spp. apresentaram um *score* HAQ menor, ou seja, eles possuem maior funcionalidade nas atividades descritas, podendo ser um indicativo que a exposição aos antígenos de parasitos reduziu a gravidade da AR.

Uma mudança na resposta imune ao predomínio de células T *helper*, devido à exposição a helmintos poderia modular negativamente a inflamação em pacientes com AR, resultando em menor gravidade/lesão articular (MAXIMIANO, S. et al., 2017). De maneira geral, no presente estudo, os pacientes com IgG demonstraram uma menor dificuldade em sua mobilidade segundo o HAQ. Em especial, em sua capacidade de caminhar e alcançar objetos. Assim, sugere-se que possivelmente devido a suas exposições a helmintos, o sistema imune foi modulado e, conseqüentemente, a AR apresenta menor gravidade.

A falta de exposição aos parasitos contribuiu para o aumento da condição de uma resposta imunológica exacerbada como proposto pela hipótese da higiene. A diminuição da gravidade da AR nos pacientes expostos ao parasito também demonstra que estes possivelmente modulam a resposta imunológica dos seus hospedeiros. Contudo, necessita-se de mais estudos para a criação de novas estratégias terapêuticas e ampliar o arsenal de tratamentos disponível para a AR.

6. CONCLUSÕES

Conclui-se, no presente estudo, que a exposição antigênica a *Toxocara* spp. em pessoas com artrite reumatoide influenciou no quadro clínico destes pacientes. A ausência de anticorpos IgG séricos totais anti-*Toxocara canis* influenciou negativamente na gravidade da doença autoimune, assim como, a presença deste anticorpo foi um fator protetor para a funcionalidade dos pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APAER, S. et al. Parasitic infection as a potential therapeutic tool against rheumatoid arthritis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 12, n. 4, p. 2359-2366, out. 2016.

<https://doi.org/10.3892/etm.2016.3660>

BACH, J. F. The hygiene hypothesis in autoimmunity: the role of pathogens and commensals. **Nature reviews. Immunology**, v. 18, n. 2, p. 105-120, fev. 2018.

<https://doi.org/10.1038/nri.2017.111>

BASHI, T. et al. The mechanisms behind helminth's immunomodulation in autoimmunity. **Autoimmunity reviews**, v. 14, n. 2, p. 98-104, fev. 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.10.004>

BETHONY, J. et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. **Lancet**, v. 367, n. 9521, p. 1521-1532, mai.2006.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68653-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68653-4)

CAMPOS JÚNIOR, Dioclécio et al. Frequência de soropositividade para antígenos de *Toxocara canis* em crianças de classes sociais diferentes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, p. 509-513, jul. 2003. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822003000400013>.

CASTRO ROCHA, F. A. et al. Microbes, helminths, and rheumatic diseases. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 34, n. 4, p. 101528, ago. 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.berh.2020.101528>

CORBET, M. et al. Suppression of inflammatory arthritis by the parasitic worm product ES-62 is associated with epigenetic changes in synovial fibroblasts. **PLoS Pathogens**, v. 17, n. 11, nov. 2021.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010069>

DA SILVA, M. B. et al. Proteomics and immunoblotting analyses reveal antigens that optimize the immunodiagnosis of the infection by *Toxocara* spp. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 5, p. e2994-e3006, set. 2022.

<https://doi.org/10.1111/tbed.14650>

KANEVA, Eleonora et al. Study of IgG avidity and the level of specific IgA antibodies and their significance in the diagnosis of human toxocarosis. **Experimental Parasitology**, v. 236-237, p. 108236, maio 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2022.108236>.

MAXIMIANO, S. et al. Parasitoses intestinais: efeito protetor na artrite reumatoide? **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, p. 461-465, set. 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.rbr.2016.04.002>

FELIX, D. A. DA S. et al. *Toxocara* spp., Larva migrans visceral e Saúde Pública: Revisão. **Pubvet**, v. 14, n. 12, p. 1-8, dez. 2020.

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n12a719.1-8>

FENOY, S. et al. Follow-up of antibody avidity in BALB/c mice infected with *Toxocara canis*. **Parasitology**, v. 135, n. 6, p. 725-733, mai. 2008.

<https://doi.org/10.1017/S0031182008004368>

FIALHO, Paula Mayara Matos et al. Seroprevalence Brazil. **Advances In Parasitology**, p. 357-374, 2020. Elsevier.

<http://dx.doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.013>.

FRIES, James F. et al. Measurement of Patient Outcome in Arthritis. **Official Journal of the American Rheumatism Association Section of the Arthritis Foundation**, p. 137 – 145, v. 23, n. 2, fev. 1980.

<https://doi.org/10.1002/art.1780230202>

GEORGE, M. D. et al. Immunosuppression and the risk of readmission and mortality in patients with rheumatoid arthritis undergoing hip fracture, abdominopelvic and cardiac surgery. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 79, n. 5, p. 573, mai. 2020.

<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-216802>

SHOR, D. A., SHOENFLED, Y. Will worms cure rheumatoid arthritis? **Nature Reviews Rheumatology**, v.9, p. 138-140, mar. 2013.

<https://doi.org/10.1038/nrrheum.2013.3>

MACPHERSON, C. N. L. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance. **International Journal for Parasitology**, nov. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.004>

MARTINS, I.V.F. **Parasitologia Veterinária**. 2º ed. Vitória: EDUFES, 2019.

OJHA, S. C. et al. Geohelminths: public health significance. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 1, p. 5-16, jan. 2014.

<https://doi.org/10.3855/jidc.3183>

OLIVEIRA, S. M. DE et al. Intestinal parasites infection: protective effect in rheumatoid arthritis? **Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)**, v. 57, n. 5, p. 461-465, set. 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.rbre.2016.06.004>

SHAYESTEH, Z. et al. Evaluating the preventive and curative effects of *Toxocara canis* larva in Freund's complete adjuvant-induced arthritis. **Parasite Immunology**, v. 42, n. 11, p. e12760, nov. 2020.

<https://doi.org/10.1111/pim.12760>

STRUBE, C.; HEUER, L.; JANECEK, E. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. **Veterinary Parasitology**, v. 193, n. 4, p. 375-389, abr. 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.033>

SMITS, H. H. et al. Chronic Helminth Infections Protect Against Allergic Diseases by Active Regulatory Processes. **Current Allergy and Asthma Reports**, v.10, p. 3-12, jan. 2010.

<https://doi.org/10.1007/s11882-009-0085-3>

SUDAN, V. et al. Prevalence and Molecular Characterization of *Toxoplasma gondii* and *Toxocara cati* Among Stray and Household Cats and Cat Owners in Tehran, Iran. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 1, p. 9-22, abr. 2022.

<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.927185>

VERSINI, M. et al. Unraveling the Hygiene Hypothesis of helminthes and autoimmunity: origins, pathophysiology, and clinical applications. **BMC Medicine**, v. 13, n. 1, p. 13-29, abr. 2015.

<https://doi.org/10.1186/s12916-015-0306-7>

ZHANG, B.; GEMS, D. Gross ways to live long: Parasitic worms as an anti-inflammaging therapy? **eLife**, v. 10, p. 1-12, fev. 2021.

<https://doi.org/10.7554/eLife.65180>

ANEXOS**ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “DIAGNÓSTICO DE GEOHELMINTOS EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTOIMUNES E PADRÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA SISTÊMICA”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Natália Berne Pinheiro, Rodrigo Rodrigues Cambraia e Roberto Ranza.

Nesta pesquisa nós estamos buscando identificar quais são os parasitos que estão presentes em pacientes com doenças reumáticas.

O Termo/Registro de Consentimento Livre e Esclarecido está sendo obtido pelo pesquisador Natália Berne Pinheiro, Rodrigo Rodrigues Cambraia e Roberto Ranza profissional habilitado para coleta de sangue, durante a consulta no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Você tem o tempo que for necessário para decidir se quer ou não participar da pesquisa (conforme item IV da Resolução nº 466/2012 ou Capítulo. III da Resolução nº 510/2016).

Na sua participação, você submetido a uma picadinha com agulha para coleta de 10 mL de sangue que depois será levado ao laboratório para observar a presença de resposta do corpo a presença de parasitos. Também será fornecido potes para que, em casa, quando houver vontade espontaneamente o responsável colete as fezes. Estas também serão enviadas ao laboratório para visualização de parasitos. Além disso, será realizado sete perguntas com tempo estimado para responder de 5 minutos. O pesquisador responsável atenderá as orientações das Resoluções nº 466/2012, Capítulo XI, Item XI.2: f e nº 510/2016, Capítulo VI, Art. 28: IV - manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período mínimo de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa. A ciência está em constante evolução e as metodologias disponíveis atualmente não são as mesmas de amanhã. Por isso a importância de poder realizar novas inferências nestes dados com o armazenamento das amostras em biorepositório. O armazenamento das amostras de sangue, soro e fezes será no laboratório de Helmintologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas em freezer à -20°C até o processamento. As análises a serem realizadas serão de técnicas de sorodiagnóstico, molecular e coproparasitológicas. Após a conclusão das análises, em um período de cinco anos, o material não utilizado será imerso em hipoclorito 2% e o material descartado em lixo biológico apropriado. Caso haja intenção de utilização das amostras em pesquisas futuras o participante de pesquisa será contatado para novo consentimento, em atendimento à Portaria nº 2.201 de setembro de 2011, artigo 18.

Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. É compromisso do pesquisador responsável a divulgação dos resultados da pesquisa, em formato acessível ao grupo ou população que foi pesquisada (Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 3º, Inciso IV).

Você não terá nenhum gasto e nem ganho financeiro por participar na pesquisa. Havendo algum dano decorrente da pesquisa, você terá direito a solicitar indenização através das vias judiciais (Código Civil, Lei 10.406/2002, Artigos 927 a 954 e Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 19).

Os riscos consistem em vazamento da identificação das pessoas, por ser dados sigilosos, porém iremos fazer um cadastro onde apenas o coordenador do projeto terá acesso e a partir deste número de cadastro todas as amostras irão receber apenas códigos. Além

1/2

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Participante

disso, após a coleta de sangue pode haver vermelhidão no local. Os benefícios serão de conseguir indicar a necessidade específica de tratamento para o combate de endoparasitos. Assim será promovido a redução da taxa de infecção nestes indivíduos. Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou coação. Até o momento da divulgação dos resultados, você também é livre para solicitar a retirada dos seus dados da pesquisa.

Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você, assinada e rubricada pelos pesquisadores.

Em caso de qualquer dúvida ou reclamação a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com Natália Berne Pinheiro, Campus Umuarama - Bloco 4C - Sala 229. Av. Amazonas - s/n - Bairro Umuarama, Uberlândia – MG. Telefone: (34) 3225-8669.

Para obter orientações quanto aos direitos dos participantes de pesquisa acesse a cartilha no link:

https://conselho.saude.gov.br/images/comissoes/conep/documentos/Cartilha_Direitos_Eticos_2020.pdf.

Você poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos – CEP, da Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, *campus* Santa Mônica – Uberlândia/MG, 38408-100; pelo telefone (34) 3239-4131 ou pelo e-mail cep@propp.ufu.br. O CEP/UFU é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, de de 20.....

Assinatura do(s) pesquisador(es)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do participante de pesquisa

ANEXO 2 – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA O MENOR ENTRE 12 E 18 ANOS INCOMPLETOS

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA O MENOR ENTRE 12 E 18 ANOS INCOMPLETOS

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “DIAGNÓSTICO DE GEOHELMINTOS EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTOIMUNES E PADRÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA SISTÊMICA”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Natália Berne Pinheiro, Rodrigo Rodrigues Cambraia e Roberto Ranza.

Nesta pesquisa nós estamos buscando identificar quais são os parasitos que estão presentes em pacientes com doenças reumáticas.

O Termo/Registro de Assentimento está sendo obtido pelo pesquisador Natália Berne Pinheiro, Rodrigo Rodrigues Cambraia e Roberto Ranza profissional habilitado para coleta de sangue, durante a consulta no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Você tem o tempo que for necessário para decidir participar ou não participar da pesquisa (conforme item IV da Resolução nº 466/2012 ou Capítulo III da Resolução nº 510/2016).

Na sua participação, você será submetido a uma picadinha com agulha para coleta de 10 mL de sangue que depois será levado ao laboratório para observar a presença de resposta do corpo a presença de parasitos. Também será fornecido potes para que, em casa, quando houver vontade espontaneamente o responsável colete as fezes. Estas também serão enviadas ao laboratório para visualização de parasitos. Além disso, será realizado sete perguntas com tempo estimado para responder de 5 minutos. O pesquisador responsável atenderá as orientações das Resoluções nº 466/2012, Capítulo XI, Item XI.2: f e nº 510/2016, Capítulo VI, Art. 28: IV - manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período mínimo de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa. A ciência está em constante evolução e as metodologias disponíveis atualmente não são as mesmas de amanhã. Por isso a importância de poder realizar novas inferências nestes dados com o armazenamento das amostras em biorrepositório. O armazenamento das amostras de sangue, soro e fezes será no laboratório de Helminologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas em freezer à -20°C até o processamento. As análises a serem realizadas serão de técnicas de sorodiagnóstico, molecular e coproparasitológicas. Após a conclusão das análises, em um período de cinco anos, o material não utilizado será imerso em hipoclorito 2% e o material descartado em lixo biológico apropriado. Caso haja intenção de utilização das amostras em pesquisas futuras o participante de pesquisa será contatado para novo consentimento, em atendimento à Portaria nº 2.201 de setembro de 2011, artigo 18.

Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. É compromisso do pesquisador responsável a divulgação dos resultados da pesquisa, em formato acessível ao grupo ou população que foi pesquisada (Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 3º, Inciso IV).

Você não terá nenhum gasto e nem ganho financeiro por participar na pesquisa.

Havendo algum dano decorrente da pesquisa, você terá direito a solicitar indenização através das vias judiciais (Código Civil, Lei 10.406/2002, Artigos 927 a 954 e Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 19).

Os riscos consistem em vazamento da identificação das pessoas, por ser dados sigilosos, porém iremos fazer um cadastro onde apenas o coordenador do projeto terá acesso e a

1/2

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Participante

partir deste número de cadastro todas as amostras irão receber apenas códigos. Além disso, após a coleta de sangue pode haver vermelhidão no local. Os benefícios serão de conseguir indicar a necessidade específica de tratamento para o combate de endoparasitos. Assim será promovido a redução da taxa de infecção nestes indivíduos.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou coação. Até o momento da divulgação dos resultados, você também é livre para solicitar a retirada dos seus dados da pesquisa. Mesmo seu responsável legal tendo consentido, você não é obrigado a participar da pesquisa se não quiser.

Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você, assinada e rubricada pelos pesquisadores.

Em caso de qualquer dúvida ou reclamação a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com Natália Berne Pinheiro, Campus Umuarama - Bloco 4C - Sala 229. Av. Amazonas - s/n - Bairro Umuarama, Uberlândia – MG. Telefone: (34) 3225-8669.

Você poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos – CEP, da Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, *campus* Santa Mônica – Uberlândia/MG, 38408-100; pelo telefone (34) 3239-4131 ou pelo e-mail cep@propp.ufu.br. O CEP/UFU é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, de de 20.....

Assinatura do(s) pesquisador(es)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do participante de pesquisa

2/2

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Participante

ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RESPONSÁVEL LEGAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RESPONSÁVEL LEGAL POR MENOR DE 18 ANOS

Considerando a sua condição de responsável legal pelo(a) menor, apresentamos este convite e solicitamos o seu consentimento para que ele(a) participe da intitulada “DIAGNÓSTICO DE GEOHELMINTOS EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS REUMATOLÓGICAS AUTOIMUNES E PADRÃO DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA SISTÊMICA”, sob a responsabilidade dos pesquisadores Natália Berne Pinheiro, Rodrigo Rodrigues Cambraia e Roberto Ranza.

Nesta pesquisa nós estamos buscando identificar quais são os parasitos que estão presentes em pacientes com doenças reumáticas.

O Termo/Registro de Consentimento Livre e Esclarecido está sendo obtido pelo pesquisador Natália Berne Pinheiro, Rodrigo Rodrigues Cambraia e Roberto Ranza profissional habilitado para coleta de sangue, durante a consulta no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia. Você terá o tempo que for necessário para decidir se a pessoa sob sua responsabilidade participará ou não da pesquisa (conforme item IV da Resolução nº 466/2012 ou Capítulo III da Resolução nº 510/2016).

Na participação do(a) menor sob sua responsabilidade, ele(a) será submetido a uma picadinha com agulha para coleta de 10 mL de sangue que depois será levado ao laboratório para observar a presença de resposta do corpo a presença de parasitos. Também será fornecido potes para que, em casa, quando houver vontade espontaneamente o responsável colete as fezes. Estas também serão enviadas ao laboratório para visualização de parasitos. Além disso, será realizado sete perguntas com tempo estimado para responder de 5 minutos. O pesquisador responsável atenderá as orientações das Resoluções nº 466/2012, Capítulo XI, Item XI.2: f e nº 510/2016, Capítulo VI, Art. 28: IV - manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período mínimo de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa. A ciência está em constante evolução e as metodologias disponíveis atualmente não são as mesmas de amanhã. Por isso a importância de poder realizar novas inferências nestes dados com o armazenamento das amostras em biorrepositório. O armazenamento das amostras de sangue, soro e fezes será no laboratório de Helminologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas em freezer à -20°C até o processamento. As análises a serem realizadas serão de técnicas de sorodiagnóstico, molecular e coproparasitológicas. Após a conclusão das análises, em um período de cinco anos, o material não utilizado será imerso em hipoclorito 2% e o material descartado em lixo biológico apropriado. Caso haja intenção de utilização das amostras em pesquisas futuras o participante de pesquisa será contatado para novo consentimento, em atendimento à Portaria nº 2.201 de setembro de 2011, artigo 18.

Em nenhum momento, nem o(a) menor e nem você serão identificados. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a identidade dele(a) e a sua serão preservadas. É compromisso do pesquisador responsável a divulgação os resultados da pesquisa, em formato acessível ao grupo ou população que foi pesquisada (Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 3º, Inciso IV).

Nem ele(a) e nem você terão gastos e nem ganhos financeiros por participar na pesquisa. Havendo algum dano decorrente da pesquisa, você terá direito a solicitar indenização através das vias judiciais (Código Civil, Lei 10.406/2002, Artigos 927 a 954 e Resolução CNS nº 510 de 2016, Artigo 19).

1/2

Rubrica do Pesquisador

Rubrica do Participante

Os riscos consistem em vazamento da identificação das pessoas, por ser dados sigilosos, porém iremos fazer um cadastro onde apenas o coordenador do projeto terá acesso e a partir deste número de cadastro todas as amostras irão receber apenas códigos. Além disso, após a coleta de sangue pode haver vermelhidão no local. Os benefícios serão de conseguir indicar a necessidade específica de tratamento para o combate de endoparasitos. Assim será promovido a redução da taxa de infecção nestes indivíduos.

A qualquer momento, você poderá retirar o seu consentimento para que o(a) menor sob sua responsabilidade participe da pesquisa. Garantimos que não haverá coação para que o consentimento seja mantido, nem que haverá prejuízo ao(á) menor sob sua responsabilidade. Até o momento da divulgação dos resultados, você também é livre para solicitar a retirada dos dados do(a) menor sob sua responsabilidade da pesquisa.

O(A) menor sob sua responsabilidade também poderá retirar seu assentimento sem qualquer prejuízo ou coação. Até o momento da divulgação dos resultados, ela também é livre para solicitar a retirada dos seus dados da pesquisa.

Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você, assinada e rubricada pelos pesquisadores.

Em caso de qualquer dúvida ou reclamação a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com Natália Berne Pinheiro, Campus Umuarama - Bloco 4C - Sala 229. Av. Amazonas - s/n - Bairro Umuarama, Uberlândia - MG. Telefone: (34) 3225-8669.

Você poderá também entrar em contato com o Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos - CEP, da Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, *campus* Santa Mônica - Uberlândia/MG, 38408-100; pelo telefone (34) 3239-4131 ou pelo e-mail cep@propp.ufu.br. O CEP/UFU é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Uberlândia, de de 20.....

Assinatura do(s) pesquisador(es)

Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do participante de pesquisa

ANEXO 4 – QUESTIONÁRIO INICIAL




Questionário



Código paciente: _____

1- Localidade de moradia Zona Urbana Zona Rural**2- Idade:** _____**3- Sexo:** F M**4- Profissão:** _____**5- Quantas pessoas moram na casa:** _____**6- Renda familiar:** _____**7- Possui animais de estimação?** Sim- Quantos e quais? _____ Não**8- Já teve alguma verminose?** Sim. Não**8.1- Quando?** Menos de um ano Mais de um ano**9- Fez uso de vermífugo nos últimos 6 meses?** Sim – Qual? _____ Não

ANEXO 5 – HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE (HAQ)

 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA HOSPITAL DE CLÍNICAS - SERVIÇO DE REUMATOLOGIA				
QUESTIONÁRIO PARA O PACIENTE				
Este questionário é MUITO IMPORTANTE para nós e tem a finalidade de fazer-nos entender QUANTO A SUA DOENÇA ESTÁ DIFICULTANDO A SUA VIDA no dia a dia. Por favor, marque com um X com quanta dificuldade, NA SEMANA PASSADA, você pode fazer as seguintes coisas:				
VOCÊ É CAPAZ DE:	sem dificuldade	com pouca dificuldade	com muita dificuldade	não consigo
Vestir-se e cuidar-se				
1- vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar suas roupas?	_____	_____	_____	_____
2- lavar sua cabeça e seus cabelos?	_____	_____	_____	_____
Levantar-se				
3- Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços?	_____	_____	_____	_____
4- Deitar-se e levantar-se da cama?	_____	_____	_____	_____
Coser				
5- Cortar um pedaço de carne?	_____	_____	_____	_____
6- Levar a boca um copo ou uma xícara cheia de café, leite ou água?	_____	_____	_____	_____
7- Abrir um saco de leite comum?	_____	_____	_____	_____
Caminhar				
8- Caminhar em lugares planos?	_____	_____	_____	_____
9- Subir 5 degraus?	_____	_____	_____	_____
Higiene				
10- Lavar seu corpo inteiro e seca-lo após o banho?	_____	_____	_____	_____
11- Tomar um banho de chuveiro?	_____	_____	_____	_____
12- Sentar-se ou levantar-se de um vaso sanitário?	_____	_____	_____	_____
A alcançar				
13- Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5 quilos que este posicionado pouco acima da cabeça?	_____	_____	_____	_____
14- Curvar-se para pegar suas roupas no chão?	_____	_____	_____	_____

VOCÊ É CAPAZ DE :	sem dificuldade	com pouca dificuldade	com muita dificuldade	não consegue								
preensão												
15- Segurar-se em pé no ônibus ou metrô?	_____	_____	_____	_____								
16- Abrir potes ou vidros de conservas que tenham sido previamente abertos?	_____	_____	_____	_____								
17- Abrir e fechar torneiras?	_____	_____	_____	_____								
outras atividades												
18- Fazer compras nas redondezas onde mora?	_____	_____	_____	_____								
19- Entrar e sair de um ônibus?	_____	_____	_____	_____								
20- Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e o rodo para puxar a água?	_____	_____	_____	_____								
Como você está se sentindo hoje em comparação a um mês atrás?												
- muito melhor hoje do que a um mês atrás	_____											
- melhor hoje do que a um mês atrás	_____											
- na mesma situação	_____											
- pior hoje do que a um mês atrás	_____											
- muito pior hoje do que a um mês atrás	_____											
Quando você está satisfeito com a sua capacidade de fazer as suas tarefas cotidianas?												
- muito satisfeito	_____											
- pouco satisfeito	_____											
- pouco insatisfeito	_____											
- muito insatisfeito	_____											
Quanta dor nas juntas você teve na semana passada? Coloque um risco na escala abaixo para indicar a intensidade a sua dor :												
nenhuma dor	_____										a pior dor possível	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Quanto você acha que a artrite é ainda ativa, isto é, que a inflamação é forte? Coloque um risco na escala abaixo para indicar o quanto você acha a sua doença ativa:												
nenhuma atividade	_____										a máxima atividade possível	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

AGRADECEMOS SUA COLABORAÇÃO