

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARIA JÚLIA PACHECO VASCONCELOS

**DETECÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G FRENTE A *Ascaris lumbricoides* EM
PACIENTES COM ESPONDILOARTRITES**

UBERLÂNDIA

2023

MARIA JÚLIA PACHECO VASCONCELOS

**DETECÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G FRENTE A *Ascaris lumbricoides* EM
PACIENTES COM ESPONDILOARTRITES**

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-MG

2023

RESUMO

Geohelmintos são nematódeos parasitos prevalentes em climas tropicais e subtropicais do mundo, onde causam infecções através da ingestão de ovos embrionados dos parasitos ou estádios larvares infecciosos. Um dos helmintos de maior prevalência no mundo é o *Ascaris lumbricoides*. Estima-se que cerca de 20 a 30% da população do continente americano esteja infectada por tal parasito. A ascaridíase é uma das doenças infecciosas intestinais mais prevalentes ao longo do tempo. O contato com o parasito induz uma resposta imune com a secreção de citocinas, com o perfil anti-inflamatório, e a resposta humoral caracterizada pela secreção de diversos anticorpos específicos, dentre eles a imunoglobulina G (IgG). As espondiloartrites (EAs) constituem um grupo de doenças inflamatórias crônicas que apresentam características clínicas e genéticas semelhantes, o que permitem que possam ser analisadas dentro de um mesmo grupo. Mesmo no estágio inicial da doença, a dor lombar inflamatória pode causar morbidade significativa no paciente. Drogas imunossupressoras são essencialmente prescritas no tratamento, visto que, há propriedades anti-inflamatórias. O objetivo deste trabalho é comparar as condições clínicas dos pacientes com espondiloartrites expostos e não expostos ao *A. lumbricoides* e analisar se a renda familiar é um fator que influencia no aumento de infecção parasitaria. Para isso, amostras de soros foram obtidas dos pacientes com espondiloartrites para detecção de anticorpos IgG anti-*A. lumbricoides*. Posteriormente, estes pacientes foram divididos em dois grupos, positivos e negativos para IgG ao parasito, a fim de avaliar-se a exposição antigênica poderia se constituir em um fator protetor para a condição clínica da doença autoimune. Os resultados a partir da análise dos soros IgG- e IgG+ em pacientes com espondiloartrites demonstraram não haver diferença significativa em relação ao grau de debilidade entre eles e a renda familiar dos pacientes não foi diferente entre grupos.

Palavras chaves: ELISA, STHs, doença autoimune, antígeno, hipótese da higiene, epidemiologia.

ABSTRACT

Geohelminths are parasitic nematodes prevalent in tropical and subtropical climates around the world, where they cause infections through ingestion of embryonated eggs of the parasites or infectious larval stages. One of the most prevalent helminths in the world is *Ascaris lumbricoides*. It is estimated that about 20 to 30% of the population of the American continent is infected by this parasite. Ascariasis is one of the most prevalent intestinal infectious diseases over time. Contact with the parasite induces an immune response with the secretion of cytokines, with an anti-inflammatory profile, and a humoral response characterized by the secretion of several specific antibodies, including immunoglobulin G (IgG). Spondyloarthritis (SpA) constitute a group of chronic inflammatory diseases that have similar clinical and genetic characteristics, which allow them to be analyzed within the same group. Even in the early stage of the disease, inflammatory low back pain can cause significant patient morbidity. Immunosuppressive drugs are essentially prescribed in the treatment, since they have anti-inflammatory properties. The objective of this study is to compare the clinical conditions of patients with spondyloarthritis exposed and not exposed to *A. lumbricoides* and to analyze whether family income is a factor that influences the increase in parasitic infection. For this, serum samples were obtained from patients with spondyloarthritis for the detection of anti-*A. lumbricoides* IgG antibodies. Subsequently, these patients were divided into two groups, positive and negative for IgG to the parasite, in order to assess whether antigenic exposure could constitute a protective factor for the clinical condition of the autoimmune disease. The results from the analysis of IgG- and IgG+ sera in patients with spondyloarthritis showed that there was no significant difference in relation to the degree of weakness between them and the family income of patients was not different between groups.

Keywords: ELIZA, STHs, autoimmune disease, antigen, hygiene hypothesis, epidemiology.

SUMÁRIO

1)INTRODUÇÃO	6
2)OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3)MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1 População do estudo e aspectos éticos	10
3.2 Questionário socioeconômico	11
3.3 <i>Health Assessment Questionnaire</i> (HAQ).....	11
3.4 Obtenção e codificação de amostras.....	11
3.5 Antígeno sintético (Peptídeo 19).....	12
3.6 Detecção de imunoglobulina G (IgG)	12
3.7 <i>Score</i> clínico dos pacientes.....	13
3.8 Índice de Reatividade (IR).....	13
3.9 Obtenção dos dados e análises estatísticas	13
4)RESULTADOS	14
5)DISCUSSÃO	17
6)CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
ANEXOS	22

1) INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses são infecções causadas por parasitos intestinais sendo, em sua maioria, desencadeados por protozoários e helmintos. Essas doenças são consideradas um problema socioeconômico relevante, pois estão ligados normalmente à falta de saneamento básico e à escassez de higiene, contribuindo desta forma, na manutenção do ciclo biológico e na disseminação de parasitos (MUNARETO et al., 2021). Os helmintos transmitidos pelo solo (*Soil-Transmitted Helminths* - STHs) ou geohelmintos são um grupo de nematódeos parasitos prevalentes em climas tropicais e subtropicais do mundo, especialmente em países de baixa e média renda, onde causam infecções através do contato com ovos embrionados dos parasitos ou estádios larvais infecciosos (LOUKAS; MAIZELS; HOTEZ, 2021). Estes parasitos dependem do solo em seu ciclo de vida, pois os ovos são eliminados no meio ambiente e, sob condições adequadas de temperatura e umidade, evoluem para formas infecciosas (MUNARETO et al., 2021).

As helmintíases são doenças parasitárias, variando de casos assintomáticos a formas leves e graves. Nas apresentações mais comuns os sintomas são inespecíficos como anorexia, irritabilidade, distúrbios do sono, náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia (BRAZ et al., 2015).

A ascariíase é uma infecção parasitária intestinal causada pelo helminto *Ascaris lumbricoides*, a espécie mais comum de nematódeo em humanos, popularmente conhecida como “lombriga” no Brasil (BRAZ et al., 2015). A infecção em humanos ocorre após a ingestão de ovos embrionados contendo as larvas infecciosas de terceiro estágio (L3), que eclodem no intestino delgado. Depois de penetrar no intestino ao nível do ceco ou cólon proximal, essas L3 migram através dos vasos sanguíneos para o fígado, coração e posteriormente, para os pulmões. Neste órgão, atravessam o parênquima pulmonar e penetram nos espaços alveolares, causando uma série de sintomas, incluindo chiado, dispneia e tosse (BEAVER; DANARAJ, 1958). Essa fase inicial/ aguda da infecção é chamada de ascariíase larval (DOLD; HOLLAND, 2011). Nos pulmões, as larvas penetram os espaços alveolares e migram pela árvore das vias aéreas até a faringe, onde são tossidas ou engolidas pelo hospedeiro. Em seu retorno ao intestino delgado, ainda no pulmão, a L3 muda

para o seu quarto estágio larval (L4) e em seguida para por sua muda final (L5) e se desenvolve em machos e fêmeas adultos sexualmente maduros (ELSE K.J et al., 2020).

A sintomologia está diretamente relacionada a carga parasitária. As infecções por *A.lumbricoides* podem ser assintomáticas (3 a 4 vermes), mas os vermes adultos podem causar ações predatórias, tóxicas ou mecânicas (média de 30 a 40 vermes). Infecções maciças (100 ou mais vermes) também são descritas, potencialmente causando danos ao fígado, evoluindo para fibrose. Pacientes infectados por este helminto correm risco de progredir para a desnutrição, especialmente na infância, devido ao grande consumo de proteínas, vitaminas, lipídeos e carboidratos pelos parasitos (BRAZ et al., 2015).

Estima-se que um quarto da população mundial esteja infectada por parasitos transmitidos pelo solo (STH) (GAZZINELLI-GUIMARÃES et al., 2013). As infecções por ascaridíase, estão concentradas nas populações mais pobres e tem alta morbidade. Estima-se que 20 a 30% da população do continente americano esteja infectado por *A. lumbricoides* (CROMPTON; DAVID W. T, 2006). Este parasito afeta mais de 1,2 bilhão de pessoas no mundo e pode ser considerada uma das infecções intestinais mais prevalentes ao longo do tempo (BRAZ et al., 2015).

Os mecanismos de resposta imune nas infecções helmínticas são múltiplos devido ao tamanho e a diversidade metabólica dos parasitos, que são antigenicamente complexos (ABBAS et al., 2014). A ascaridíase em humanos induz a síntese de altas concentrações de anticorpos imunoglobulina E (IgE), isotipos de imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina A (IgA) (BHATTACHARYYA et al., 2001). Populações de células TCD4 são heterogêneas, sendo constituída de subpopulações: as células Th1, Th2 e Th17 (COFFMAN; ROMAGNANI, 2013). Tais subpopulações são importantes na defesa do hospedeiro contra as infecções, no entanto, a resposta Th2 é mais efetiva contra helmintos e bactérias extracelulares (MILLS; MCGUIRKET, 2004).

Embora o complemento e outros fatores da resposta imune inata possam contribuir para a defesa contra a infecção por helmintos, a resposta imune adaptativa com a produção de anticorpos e citocinas é importante. As células TCD4 do tipo 2 são produtoras de citocinas como IL-4, IL-5 e IL-13 que, entre outras funções, induzem a produção de IgE e IgG pelas células B e ativação de eosinófilos, mastócitos

e basófilos, respectivamente, componentes fundamentais na defesa contra helmintos (ELSE; FINKELMAN, 1998).

O contato entre parasito e hospedeiro e a modulação da resposta imune influencia no desenvolvimento e desfecho de diversas doenças. O sistema imune é responsável pela proteção do organismo por meio de mecanismos de defesa, possuindo grande importância na proteção contra agentes patogênicos e infecciosos. Alguns distúrbios e falhas podem ocorrer no processo de defesa, seja por células apresentadoras de antígenos, anticorpos ou por falhas em outros mecanismos. Uma das principais consequências dessas falhas é o desenvolvimento de doenças autoimunes (FERREIRA et al., 2018).

As espondiloartrites (EAs) constituem um grupo de doenças inflamatórias crônicas que apresentam características clínicas e genéticas semelhantes, o que permitem que possam ser analisadas dentro de um mesmo grupo (KOHEN et al., 2014). Tais características englobam aspectos clínicos (dor axial inflamatória associada a artrite, predominante em grandes articulações de membros inferiores, e membros periféricos), radiológicos (sacroilíte) e laboratoriais (soronegatividade para o fator reumatoide), sendo então conceituadas com soronegativas. (SAMPAIO-BARROS et al., 2013). As doenças presentes neste grupo são: espondilite anquilosante (EA), artrite psoriásica (APs), artrite reativa (Are), artrite relacionada a doenças inflamatórias intestinais (DII), EA de início juvenil e EA indiferenciada (RIBEIRO et al., 2016).

Mesmo no estágio inicial da doença, a dor lombar inflamatória pode causar morbidade significativa no paciente, complicando as atividades diárias e até mesmo exigindo licença temporária das tarefas do trabalho. Muitos pacientes sofrem com a perda progressiva de sua capacidade de trabalho, o que pode resultar em aposentadoria antecipada, gerando custos adicionais para o sistema de bem-estar público (HUSCHER et al., 2006). Esta doença tem uma maior prevalência em homens e indivíduos HLA-B27 positivos (REVEILLE et al., 2001). As doenças crônicas, como as espondiloartropatias, na maioria das vezes causam um sentimento de desamparo e inutilidade mais assustadores do que a doença em si. Por isso, o paciente sempre deve ser informado de forma realista sobre as perspectivas prognósticas de sua doença, perspectivas essas que são frequentemente otimistas, desde que haja uma abordagem global de atendimento (SAMPAIO-BARROS et al., 2013). Para reduzir os sintomas clínicos são utilizadas drogas imunossupressoras

que possuem propriedades anti-inflamatórias. Sendo assim, são essencialmente prescritos na prevenção de tratamento das doenças autoimunes e inflamatórias crônicas (BRESSAN et al., 2010). O objetivo do uso dos medicamentos é proporcionar alívio das doenças com o menor dano possível ao paciente possibilitando terapias imunossupressoras mais adaptadas às necessidades individuais dos pacientes (DANOVITCH, 2001).

A hipótese de higiene é um conceito contraintuitivo. Embora seja entendido que os agentes infecciosos são potencialmente responsáveis por muitas doenças, além das doenças infecciosas, surgiu a ideia de que eles poderiam, em alguns casos, ter um efeito favorável em doenças não infecciosas e, às vezes muito graves (BACH, 2021). Estudos relacionados a hipótese da higiene demonstram que a diversidade e a riqueza de um mundo microbiano imunoestimulante nos habitats humanos são cruciais para estabelecer uma configuração do sistema imunológico competente e defensivo, enquanto a ausência e o esgotamento desses estímulos promovem o desvio imunológico e desenvolvimento de doenças alérgicas e autoimunes (EGE et al., 2011).

Foi no início dos anos 2000 que a hipótese de higiene foi estendida a doenças autoimunes, mostrando que infecções parasitárias poderiam impedir a ocorrência da autoimunidade (BACH, 2021). No entanto, as doenças autoimunes são multifatoriais e poligênicas. Os fatores predisponentes para doenças autoimunes são genéticos e ambientais (BACH, 2002). É importante esclarecer o que se entende por “higiene” quando nos referimos a hipótese da higiene. Essa está relacionada a carga infecciosa ambiental, o que depende mais do contexto socioeconômico específico de cada país industrializado, região ou contexto social familiar do que higiene pessoal. A maioria dos fatores que contribuem para a hipótese da higiene são coletivos e não individuais. A carga infecciosa depende, em grande medida, da quantidade de água potável, uso extensivo de antibióticos, mas também da generalização de vacinas (BACH, 2021).

Em paralelo, vários autores mostram em modelos experimentais que a ocorrência de doenças autoimunes é prevenida pela infecção por patógenos distintos (BACH, 2018). Além disso, há dados que mostram que helmintos induzem vários mecanismos de imunorregulação e que estes podem diminuir reações inflamatórias que causam manifestações clínicas, como enfermidades autoimunes (PETRILLO et al., 2015).

2) OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Detectar imunoglobulina G anti-*A. lumbricoides* em soros de pacientes portadores de espondiloartrites e verificar se há diferença na condição clínica de acordo com a exposição antigênica ao parasito.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Padronizar as reações imunoenzimáticas utilizando a técnica de ELISA com antígeno sintético de *Ascaris lumbricoides*;

2.2.2 Determinar os pacientes expostos e não expostos ao *A. lumbricoides*;

2.2.3 Comparar a renda familiar dos pacientes com espondiloartrites expostos e não expostos ao *A. lumbricoides*;

2.2.4 Comparar as condições clínicas entre os pacientes com espondiloartrites expostos e não expostos a *A. lumbricoides*.

3) MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 População do estudo e aspectos éticos

Foram analisados pacientes portadores de espondiloartrites, atendidos pelo setor de reumatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Para os indivíduos que aceitaram participar da pesquisa, foram aplicados dois questionários: um relacionado ao contexto socioeconômico e outro com relação ao estado funcional do paciente (HAQ). Ambos os questionários foram de fácil entendimento e foram adequadamente aplicados pelos entrevistadores, respeitando o tempo e eventuais limitações de cada paciente.

Os pacientes com espondiloartrites 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), 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), e os seus responsáveis assinaram o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido). Este trabalho foi submetido ao comitê de ética e pesquisa da

Universidade Federal de Uberlândia via Plataforma Brasil (<https://plataformabrasil.saude.gov.br/login.jsf>) e aprovado pelo parecer consubstanciado número: 5.820.607. Ambos os termos se encontram em anexo.

3.2 Questionário socioeconômico

Foi aplicado um questionário aos pacientes com o intuito de obter dados sociais e econômicos básicos como a relação à região onde estes indivíduos moram, a idade, quantas pessoas habitam a casa, renda familiar, possui ou não animais de estimação, já teve algum tipo de helmintíase ao longo dos anos, e se foi feito o uso de vermífugo nos últimos seis meses. A partir do questionário aplicado, foram obtidos resultados da renda familiar de cada um dos indivíduos. Tais rendas foram divididas em salários-mínimos (um, dois, três, quatro, cinco ou mais) e a partir destes dados, foram feitas análises estatísticas para apurar se renda familiar poderia estar associada a prevalência de infecções parasitárias. O questionário encontra-se no anexo IV.

3.3 Health Assessment Questionnaire (HAQ)

O *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) é um instrumento utilizado para várias doenças onde é feita medidas de auto relato do estado funcional (incapacidade) do paciente (FRIES et al., 1980). No questionário existem oito seções: vestir-se, levantar-se, comer, caminhar, higiene, alcançar preensão e outras atividades. Em cada seção, existem duas ou três perguntas. A pontuação de cada seção é de zero (sem nenhuma dificuldade) a três (incapaz de fazer). O questionário encontra-se no anexo V.

3.4 Obtenção e codificação de amostras

As amostras sanguíneas dos pacientes foram coletadas em tubos à vácuo de vidro sem a presença de anticoagulante e mantidas em refrigeração. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico, Epidemiologia e Controle de Parasitos (LADECH/UFU) localizado no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos com o intuito de separar o soro e o coágulo. O soro foi dividido em alíquotas e armazenado a -20 °C e -80 °C. As alíquotas foram identificadas individualmente com um código referente ao paciente e data de sua coleta.

3.5 Antígeno sintético (Peptídeo 19)

O antígeno de *Ascaris lumbricoides* utilizado para este estudo foi um antígeno sintético, nomeado de peptídeo 19. Para a seleção desse peptídeo em nematódeos foram feitas uma busca do proteoma predito da espécie *A. lumbricoides* no banco de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI) e WormBase. Estas seleções foram feitas por pesquisadores do Laboratório de Imunologia e Controle de Parasitos (LICP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). A partir do *software* Immunorank, desenvolvido por pesquisadores do LICP, foram selecionados peptídeos com maior *score* de ranquiamento de imunogenicidade. Foram selecionados mais de 5000 peptídeos de 15 aminoácidos a partir do proteoma predito do *A. lumbricoides*, onde foram feitas avaliações de conservação. A síntese destes peptídeos foi realizada pela técnica SPSS (*Solid Phase Peptide Synthesis*) que permite o acoplamento de aminoácidos em um suporte de resina. Esta resina possui um linker para iniciação da síntese do peptídeo. Após a síntese da cadeia de peptídeo de interesse é realizada a clivagem para a liberação destes peptídeos da resina. A síntese foi feita por um equipamento ResPep RS (Intavis).

3.6 Detecção de imunoglobulina G (IgG)

Todas as amostras coletadas foram submetidas ao teste imunoenzimático de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) indireto, com o intuito de identificar a presença de anticorpos do tipo imunoglobulina G (IgG) sérica total para *Ascaris lumbricoides*. Todas as amostras foram avaliadas em duplicatas e utilizando o anticorpo secundário (conjugado) anti- IgG humana.

Cada poço da placa foi previamente sensibilizado (2µg/poço) com o peptídeo 19 diluído em tampão carbonato-bicarbonato (pH 9,6). Cada poço foi sensibilizado com 100µl da solução e a placa incubada a 37° C *overnight*. Posteriormente a placa foi lavada quatro vezes utilizando-se o PBS com 0,05% de Tween 20 e bloqueados com 200 µL por poço com Molico® (leite desnatado) a 5% diluído em PBS com 0,05% de Tween 20 e incubada a 37°C por uma hora. Após o processo de descanso e lavagem, os soros dos pacientes, em duplicatas, foram adicionados no volume final de 100 µL diluído 1:100 em PBS com 0,05% de Tween 20 Molico® 1%. A placa foi incubada novamente por uma hora a 37°C.

Após o tempo de espera e passado pelos processos de lavagem, foi adicionado

100 µL do anti-IgG secundário (conjugado) na concentração de 1:10000 em PBS com 0,05% de Tween20 Molico[®] 1%. Posteriormente ao tempo de espera de uma hora e o processo de lavagem, foi adicionado 100 µL de OPD (o-Phenylenediamine) com concentração total de 666µg/mL e 6 µL de H₂O₂ diluído em tampão citrato-fosfato (15 ml) com pH 5,0. 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. (2M). A absorbância foi determinada a 490 nm por um leitor de microplacas (BIOTEK). Os resultados foram obtidos a partir da média da absorbância das duplicatas dos soros dos pacientes o *cut off* foi obtido a partir da média dos soros negativos acrescidos de duas vezes o desvio padrão.

3.7 Score clínico dos pacientes

Os “*Scores*” dos pacientes foram calculados a partir do questionário HAQ (*Health Assessment Questionnaire*). Dentro de cada categoria foram atribuídos valores às respostas entre zero (mínimo) e três (máximo) para avaliar as condições clínicas dos pacientes. A partir da resposta, foi calculado a média para obtenção do *score* de cada categoria e o *score* total.

3.8 Índice de Reatividade (IR)

O índice é calculado a partir da média da absorbância dos soros dividido pela absorbância do *cut off*. Valores acima de um (IR>1) são consideradas amostras positivas. Os valores de IR são diretamente proporcionais à reatividade das amostras.

3.9 Obtenção dos dados e análises estatísticas

Foi utilizado o *software* Microsoft Excel para calcular as médias das absorbâncias e o desvio padrão dos controles negativos utilizados na reação de ELISA para obtenção do *cut off* (ponto de corte). Valores de absorbância acima do *cut off* foram considerados positivos para o anticorpo imunoglobulina G (IgG). Em seguida foi calculado o índice de reatividade destas amostras.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* GraphPad 8.0 onde inicialmente foi feito o teste de normalidade com as medias dos *scores* dos pacientes e após obtenção dos dados, foi utilizando o teste não paramétrico “Mann-Whitney”. Foram comparados os *scores* dos pacientes positivos e negativos para IgG. As diferenças entre os grupos com os valores de $p < 0,05$ foram considerados

estatisticamente significativas.

4) RESULTADOS

Foram analisados soros de trinta e cinco pacientes com espondiloartrite, sendo trinta homens e cinco mulheres. A partir dos dados fornecidos pelos pacientes, foi possível obter a idade média desta população sendo de 48 anos. Dentre estes trinta e cinco pacientes, apenas quatro fizeram o uso de anti-helmíntico nos últimos seis meses, dentre os quais não se detectou IgG anti-*A. lumbricoides* em seus soros.

A partir dos dados estatísticos e o resultado da absorvância dos soros dos pacientes, foi possível obter quais indivíduos eram positivos e negativos para IgG anti-*A. lumbricoides*. Dentre os trinta e cinco soros verificados, apenas três amostras possuíam IgG contra *A. lumbricoides* (IR>1).

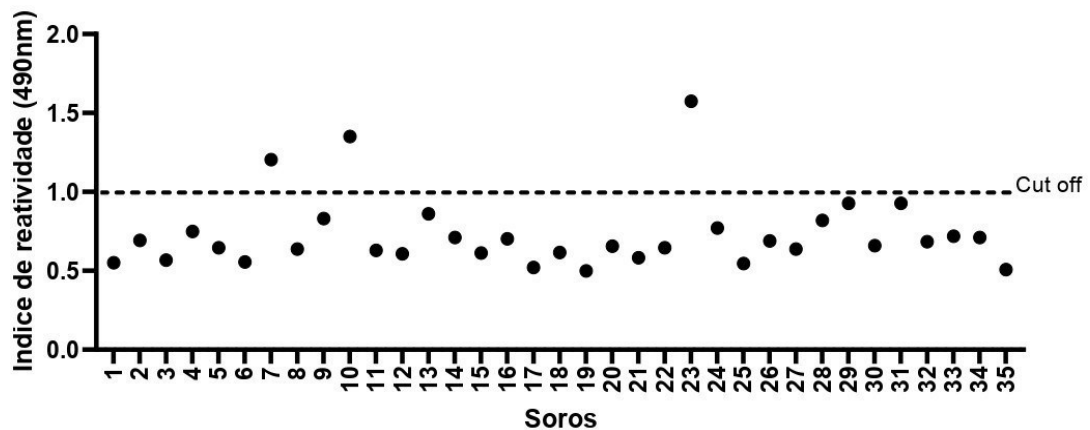


Figura 1- Índice de reatividade de IgG anti antígeno sintético (Peptídeo 19) de *A. lumbricoides* em soros de trinta e cinco pacientes com espondiloartrites.

A partir do *score* clínico dos pacientes, não foi possível verificar diferenças significativas entre os grupos avaliados em relação ao grau de debilidade entre os pacientes positivos e negativos para o anticorpo contra *A. lumbricoides*. Sendo assim, ambos os grupos IgG positivo e IgG negativo possuem grau de desenvolvimento e acometimento por conta da espondiloartrites semelhantes (Figura 2 e Figura 3).

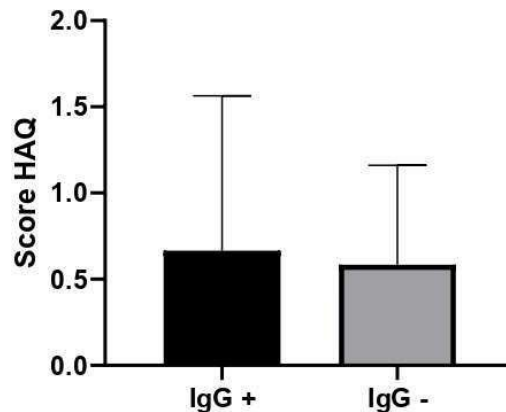


Figura 2: Pacientes IgG positivo e IgG negativo anti- peptídeo 19 em relação ao *score* HAQ total. As análises estatísticas não indicaram diferenças significativas entre os grupos analisados.

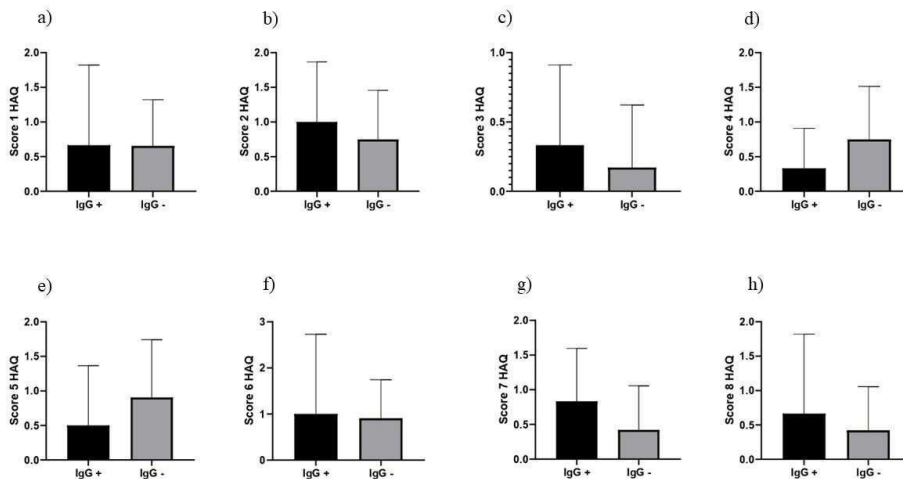


Figura 3: Pacientes IgG positivo e IgG negativo anti- peptídeo 19 em relação aos *scores* do HAQ de cada categoria avaliada no questionário sobre a condição clínica dos pacientes com espondiloartrites. Em a), b), c), d), e), f), g) e h) são relativos a vestir-se, levantar-se, comer, à capacidade de caminhar, higiene, alcançar, preensão e outras atividades, respectivamente. As análises estatísticas não indicaram diferenças significativas entre os grupos analisados.

Em relação ao nível de dor que os pacientes sentiam em suas articulações e quanto a espondiloartrite é ativa no dia a dia dessas pessoas, também não houve diferenças significativas entre os grupos IgG+ e IgG- (Figura 4).

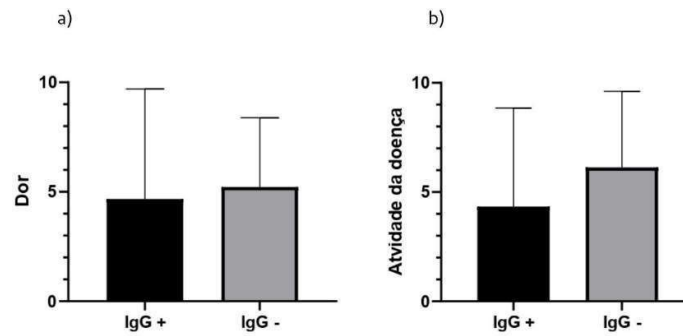


Figura 4: Pacientes IgG positivo e IgG negativo anti- peptídeo 19 em relação aos scores do HAQ. Em a) e b) são relativos, respectivamente, a dor e atividade da doença. As análises estatísticas não indicaram diferenças significativas entre os grupos analisados.

A partir do questionário socioeconômico, não foi possível estabelecer relação entre a distribuição da renda familiar e a resposta de anticorpos IgG anti-*Ascaris lumbricoides*. Não foi possível observar diferenças significativas entre os grupos avaliados (Figura 5).

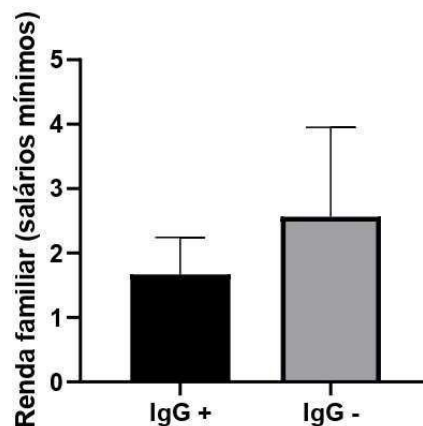


Figura 5: Renda familiar dos pacientes com espondiloartires positivismo (IgG +) e negativos (IgG -) para IgG anti-*A. lumbricoides*. As análises estatísticas não indicaram diferenças significativas entre os grupos analisados.

5) DISCUSSÃO

Este trabalho evidencia que, pacientes com espondiloartrites analisados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, tanto positivos quanto negativos para anticorpos IgG contra *Ascaris lumbricoides* possuem desenvolvimento da doença e grau de mobilidade comprometido de forma semelhante. Ao analisar os dados estatísticos foi possível identificar que ambos os grupos estudados (IgG + e IgG -), não possuíam diferença significativa entre os *scores* HAQ. Neste trabalho não foi possível estabelecer uma relação entre exposição antigênica ao *A. lumbricoides* e menor severidade das condições clínicas nas espondiloartrites. Estes resultados podem ser decorrentes do baixo número amostral dos pacientes IgG+.

A hipótese da higiene esta relacionada às alergias e também há estudos que evidenciam que helmintos induzem vários mecanismos de imunorregulação e que estes podem diminuir reações inflamatórias que causam manifestações clínicas, como enfermidades autoimunes (PETRILLO et al., 2015). No entanto, entre os trinta e cinco pacientes analisados, apenas três possuíam IgG sérica total anti-*A. lumbricoides*, e tanto o grupo positivo quanto negativo para a presença de anticorpos possuíam grau de debilidade semelhante provocado pela doença.

As infecções por ascaridíase, estão concentradas nas populações mais pobres e tem alta morbidade. Estima-se que 20 a 30% da população do continente americano esteja infectado por *A. lumbricoides* (CROMPTON; ORGANIZATION, 2006). Segundo estimativas do último inquérito nacional, a prevalência estimada da ascaridíase no Brasil é de 6% (intervalo de confiança 5,05 a 6,96) baseado na análise de aproximadamente, 200.000 amostras. Em Minas Gerais, a prevalência estimada analisando-se cerca de 30.000 amostras foi de 1,43% (intervalo de confiança de 0,90 a 1,96) (KATZ, 2018). Em relação a soroprevalência ao *A. lumbricoides* os trabalhos são escassos no Brasil. A soroprevalência estimada em uma população venezuelena foi de 23% (ARAUJO et al., 2015). Neste trabalho, menos de 10% dos pacientes com espondiloartrites foram expostos a infecções por *A. lumbricoides*. Vários autores citam, em modelos experimentais, que a ocorrência de doenças autoimunes, poderiam ser prevenidas por infecção por patógenos distintos (BACH, 2018). Estes resultados sugerem que a baixa exposição antigênica, neste caso ao *A. lumbricoides*, poderia ter relação com o desenvolvimento da autoimunidade. Dentre os pacientes avaliados, todos possuíam o desenvolvimento avançado de espondiloartrite, no entanto, trinta e

dois não tiveram exposição antigênica ao *A. lumbricoides*, sugerindo que a falta de contato com o parasito poderia ser um fator de desenvolvimento da doença autoimune.

A baixa exposição antigênica contra os patógenos gastrointestinais pode decorrer de diversos fatores. Os mais prováveis têm relação com as boas práticas de higiene, o uso de antibióticos, vacinas, melhoria da infraestrutura sanitária, dentre outros. Tais fatos mostram que um dos possíveis fatores de aumento dos distúrbios imunológicos, são decorrentes de fatores ambientais higiênicos, sugerindo que a falta de exposição a agentes infecciosos podem ter relação com o desenvolvimento de doenças autoimunes (STIEMSMA et al., 2015).

Devido ao N amostral baixo do estudo, foi visto a partir das análises estatística que não houve uma diferença significativa com relação a renda familiar dos pacientes. Aumentar o tamanho da amostra analisada seria um importante fator para melhor analisar essas relações.

6) CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a presença de anticorpos IgG não foi um fator determinante para o desenvolvimento de uma doença autoimune menos agressiva e que a renda familiar dos pacientes com espondiloartrites não foi diferente entre grupos IgG+ e IgG -.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, ABUL K. et al. **Imunologia Básica : Funções E Distúrbios Do Sistema Imunológico**. Rio de Janeiro, Brazil, Saunders, 2014.

ARAUJO, ZAIDA et al. Seropositivity for ascariasis and toxocariasis and cytokine expression among the indigenous people in the venezuelan delta region. **Institute of Tropical Medicine of São Paulo** v. 57, n. 1, 1 Feb. 2015, pp. 47–55. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000100007>

BACH, J. F. The hygiene hypothesis in autoimmunity: the role of pathogens and commensals. **Nature Reviews. Immunology**, v. 18, n. 2, p. 105–120, 1 fev. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri.2017.111>

BACH, J. F. Revisiting the Hygiene Hypothesis in the Context of Autoimmunity. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 28 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615192>

BACH, J. F. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. **The New England Journal of Medicine**, v. 347, n. 12, p. 911–920, 19 set. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra020100>

BHATTACHARYYA; TANUSREE et al. Possible Approach for Serodiagnosis of Ascariasis by Evaluation of Immunoglobulin G4 Response Using *Ascaris Lumbricoides* Somatic Antigen. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, no. 8, Aug. 2001, pp. 2991–2994. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.39.8.2991-2994.2001>

BEAVER; DANARAJ Pulmonary Ascariasis Resembling Eosinophilic Lung: Autopsy Report with Description of Larvae in the Bronchioles. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 7, n. 1, p. 100–111, 1 jan. 1958. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1958.7.100>

BRAZ, A. S. et al. Recommendations from the Brazilian Society of Rheumatology on the diagnosis and treatment of intestinal parasitic infections in patients with autoimmune rheumatic disorders. **Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)**, v. 55, n. 4, p. 368–380, 1 jul. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbre.2014.10.010>

BRESSAN, L. A. et al. Imunossupressores Na Dermatologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, 1 Feb. 2010, pp. 9–22. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000100002>

DOLD; HOLLAND *Ascaris* and ascariasis. **Microbes and Infection**, v. 13, n. 7, p. 632–637, 1 jul. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.09.012>

COFFMAN, R. L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. **Annual Review of Immunology**. 1989 v ;7, p. 145-73. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.07.040189.001045>

CROMPTON, DAVID, W. T & WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2006). **Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professional and programme managers**. World Health Organization

DANOVITCH; GABRIEL M. Immunosuppressive Medications for Renal Transplantation: A MultipleChoice Question. **Kidney International**, v. 59, no. 1, Jan. 2001, pp. 388–402. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.00501.x>

EGE, M. J. et al. Exposure to Environmental Microorganisms and Childhood Asthma. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 8, p. 701–709, 24 fev. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1007302>

ELSE, K. J.; FRED D FINKELMAN. “Invited Review Intestinal Nematode Parasites, Cytokines and Effector Mechanisms.” **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 8, Aug. 1998, pp. 1145–1158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(98\)00087-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00087-3)

ELSE, K. J. et al. Whipworm and Roundworm Infections **Nature Reviews Disease Primers** v. 6, n. 44, 28 mai. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0171-3>

FERREIRA, J. S. et al. O sistema imunológico e a autoimunidade. **Revista Científica do UBM**, v.?, n.?, p. 40–58, 1 maio 2018. DOI: <https://doi.org/10.52397/rcubm.v20i39.950>

FRIES, J. F. et al. “Measurement of Patient Outcome in Arthritis.” **Arthritis & Rheumatism**, v. 23, no. 2, Jan. 1980, pp. 137–145. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.1780230202>

GAZZINELLI-GUIMARÃES, P. H. et al. Parasitological and immunological aspects of early *Ascaris* spp. infection in mice. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 9, p. 697–706, ago. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.02.009>

HUSCHER, D. et al. Cost of illness in rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis and systemic lupus erythematosus in Germany. **Annals of the Rheumatic diseases**, v. 65, n. 9, p. 1175–1183, set. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1136/ard.2005.046367>

KATZ, NAFTALE. **Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelminntoses**. Belo Horizonte: CPqRR, 2018. 76 p

KOHEM, C. L. et al. Perfil do uso de drogas modificadoras de doença no Registro Brasileiro de Espondiloartrites. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 54, n. 1, p. 33–37, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2013.06.003>

LOUKAS, A; MAIZELS, R. M; HOTEZ, P. J. The yin and yang of human soil-transmitted helminth infections. **International journal for parasitology**, v. 51, n. 13–14, p. 1243–1253, 1 dez. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.11.001>

MILLS, KINGSTON H. G; PETER MCGUIRK. Antigen-Specific Regulatory T Cells—Their Induction and Role in Infection. **Seminars in Immunology**, v. 16, no. 2, Apr. 2004, pp. 107–117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smim.2003.12.006>

MUNARETO, D. D. S. et al. Parasitoses em crianças na fase pré-escolar no Brasil: revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e1910111195, 2 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11195>

PETRILLO, M. G. et al. “GITR+ Regulatory T Cells in the Treatment of Autoimmune Diseases.” **Autoimmunity Reviews**, v. 14, n. 2, Feb. 2015, pp. 117–126 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.10.011>

REVEILLE, J. D. et al. “HLA-B27 and Genetic Predisposing Factors in Spondyloarthropathies.” **Current Opinion in Rheumatology**, vol. 13, n. 4, July 2001, pp. 265–272. DOI: <https://doi.org/10.1097/00002281-200107000-00004>

RIBEIRO, S. L. E. et al. Quality of life in spondyloarthritis: analysis of a large Brazilian cohort. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 56, n. 1, p. 22–27, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbre.2015.07.013>

SAMPAIO-BARROS, P. D. et al. Recomendações sobre diagnóstico e tratamento da espondilite anquilosante. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 53, n. 3, p. 242–257, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0482-50042013000300003>

STIEMSMA, L. et al. “The Hygiene Hypothesis: Current Perspectives and Future Therapies.” **ImmunoTargets and Therapy**, v. 4, July 2015, pp. 143–157. DOI: <https://doi.org/10.2147/ITT.S61528>

ANEXOS

I (TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO MAIORES DE 18 ANOS)

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 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 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.

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

II (TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RESPONSÁVEL LEGAL POR MENORES DE 18 ANOS)

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(a) 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

2/2
 Rubrica do Pesquisador
 Rubrica do Participante

III (TERMO DE ASSENTIMENTO PARA 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

IV (QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO)



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:** _____**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

V (SCORE HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE- HAQ)

		sem dificuldade	com pouca dificuldade	com muita dificuldade	não consigo
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:					
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?	_____	_____	_____	_____	_____
Comer					
5- Cortar um pedaço de carne?	_____	_____	_____	_____	_____
6- Levantar 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?	_____	_____	_____	_____	_____
Alcançar					
13- Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5 quilos que esta 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 consigo								
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 aonde 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

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO - UNICAMP