

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**CURSO DE BIOMEDICINA**

ISADORA APARECIDA FERREIRA SILVA

**IDENTIFICAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G EM PACIENTES PORTADORES DE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO EXPOSTOS AO *Ascaris lumbricoides***

UBERLÂNDIA

Junho, 2023

ISADORA APARECIDA FERREIRA SILVA

**IDENTIFICAÇÃO DE IMUNOGLOBULINA G EM PACIENTES PORTADORES DE  
LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO EXPOSTOS AO *Ascaris lumbricoides***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Biomedicina da  
Universidade Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientador (a): Prof. Rodrigo Rodrigues Cambraia  
de Miranda

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Cambraia de Miranda

Prof. Dra. Raquel Borges Moroni

Prof. Dr. Paulo Vitor Alves Ribeiro

Uberlândia – MG

Junho, 2023

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer à minha família, que sempre me incentivou a estudar e alcançar os meus sonhos. Gratidão imensa às mulheres tenho como espelho, minha mãe Eurislene, minha avó Francisca e minha tia Sandra, que sempre me apoiaram em tudo.

Agradeço à minha irmã Nathalia por sempre estar ao meu lado, me fazer rir e me mostrar que é possível ser forte sem perder a doçura. Agradeço aos meus tios Eurismar (Bimbim) e Eurizenio e ao meu avô Eurípedes, que sempre estiveram ao meu lado e me ajudaram a ser quem eu sou hoje.

Gostaria de agradecer imensamente a professora Natália Berne e ao professor Rodrigo Cambraia, que me permitiram acompanhar o laboratório e sempre tiveram toda paciência para ensinar, aconselhar e acolher. Também agradeço a professora Raquel Moroni, que foi minha orientadora na monitoria das disciplinas de Parasitologia e Epidemiologia, com quem pude aprender muito.

Agradeço a todos os meus amigos do LADECH, que foram essenciais para a realização deste trabalho. Sem a amizade deles, todo esse caminho teria sido muito mais árduo e solitário. Agradeço em especial ao Eduardo, pela escuta generosa, à Lara por toda sensatez e companheirismo, à Maju por todas as brincadeiras e risadas que me fez dar, ao Well por toda disponibilidade e paciência; à Mariana Mococa por todo o companheirismo e ajuda e à Ana Júlia por toda franqueza e sinceridade.

Dos amigos que fiz ao longo da caminhada acadêmica, a Laís e o Thiago são os que me acompanham desde o início. Toda gratidão por esses quatro anos juntos.

Também quero agradecer aos meus amigos Gabriel Melo e Victor Nominato, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiaram, escutaram e aconselharam.

Agradeço à toda equipe do DEPAR, em especial ao Paulo, que sempre nos ajudou nos momentos de surto, que sempre nos acalmou com seus conselhos empáticos e sensatos.

## RESUMO

O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença autoimune, de caráter reumatológico, que afeta diversos órgãos, causando vários sintomas como alterações dermatológicas, disfunção renal, dor nas articulações e cansaço persistente. O tratamento convencional para essa doença inclui o uso de corticoides, medicamentos imunossupressores que diminuem a resposta imune para reduzir a autoimunidade, mas fragiliza todo o sistema imunológico. A ascaridíase humana, por sua vez, trata-se de uma infecção parasitária causada por *Ascaris lumbricoides*, um geohelminto que pode ser transmitido a partir da ingestão de alimentos contaminados com os ovos embrionados do parasito. Tendo em vista essas duas doenças de extrema importância, esse estudo buscou avaliar se há diferença na condição clínica de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, de acordo com a exposição antigênica de *A. lumbricoides*. A análise de dados pôde ser feita a partir da identificação da imunoglobulina G anti-*A. lumbricoides*; um anticorpo que evidencia a exposição ou contato prévio com o patógeno. Os pacientes participantes do estudo foram submetidos à dois questionários para coleta de informações socioeconômicas e condição física. Além disso, foram coletadas amostras de sangue, com as quais foram obtidos os soros para a realização de ensaios imunoenzimáticos e detecção de imunoglobulinas G anti-*A. lumbricoides* por ELISA. Não foi possível observar diferença na condição clínica dos pacientes com lúpus, de acordo com a exposição aos antígenos do *A. lumbricoides*.

**Palavras-chave:** Doenças autoimunes; Resposta imune, Geohelminthos; ELISA.

## ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus is an autoimmune, rheumatological disease that affects several organs, causing various symptoms such as dermatological changes, kidney dysfunction, joint pain and persistent tiredness. Conventional treatment for this disease includes the use of corticosteroids, immunosuppressive drugs that reduce the immune response, to reduce autoimmunity, but weaken the entire immune system. Human ascariasis, in turn, is a parasitic infection caused by *Ascaris lumbricoides*, a geohelminth that can be transmitted from ingestion of food contaminated with embryonated eggs of the parasite. In view of these two extremely important diseases, this study sought to assess whether there is a difference in the clinical condition of patients with systemic lupus erythematosus, according to the antigenic exposure of *A. lumbricoides*. Data analysis could be performed based on the identification of anti-*A. lumbricoides* immunoglobulin G; an antibody that evidences previous exposure or contact with the pathogen. The study patients were admitted to two experiments to collect socioeconomic information and physical conditions. In addition, blood samples were collected, with which sera were obtained for carrying out immunoenzymatic assays and detection of anti-*A. lumbricoides* immunoglobulins G by ELISA. It was not possible to observe differences in the clinical condition of patients with lupus, according to exposure to *A. lumbricoides* antigens.

**Key words:** Autoimmune diseases; immune response; soil-transmitted helminths; ELISA.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	5
2.	JUSTIFICATIVA .....	8
3.	OBJETIVOS.....	8
	3.1 Objetivo geral .....	8
	3.2 Objetivos específicos.....	8
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
	4.1 População do estudo e considerações éticas.....	9
	4.2.1 Questionário socioeconômico .....	9
	4.2.2 HAQ .....	9
	4.3 Obtenção das amostras séricas .....	10
	4.4 Antígeno sintético (peptídeo 19).....	10
	4.5 Detecção de imunoglobulina G (IgG).....	11
	4.6 Obtenção dos dados e análises estatísticas.....	11
5.	RESULTADOS .....	12
6.	DISCUSSÃO.....	15
7.	CONCLUSÃO.....	18
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
9.	ANEXOS:.....	21
	9.1 ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) .....	21
	9.2 ANEXO 2 – TERMO DE ASSENTIMENTO PARA O MENOR ENTRE 12 E 18 ANOS INCOMPLETOS .....	23
	9.3 ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA RESPONSÁVEL LEGAL.....	25
	9.4 ANEXO 4 – QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO .....	27
	9.5 ANEXO 5 – HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE (HAQ).....	28

## 1. INTRODUÇÃO

As relações parasito-hospedeiro são fundamentais para a avaliação dos possíveis danos causados por parasitoses. Visto isso, o estudo da Parasitologia é essencial não só para o entendimento dos agravos parasitários, como também para o fomento de políticas públicas que possam controlar os parasitos potencialmente prejudiciais ao bem-estar dos seres vivos (PINTO, 2011). Sendo assim, o conhecimento acerca de aspectos biológicos, patogênicos e a identificação de parasitos é fundamental em questão de saúde pública, levando em consideração a relação negativa que pode ocorrer no parasitismo de seres vivos (MASCARINI, 2003).

As infecções parasitárias representam um problema de saúde pública em países subdesenvolvidos, principalmente em populações em condição de vulnerabilidade social e econômica. Um dos agravantes para a ocorrência das parasitoses são as baixas condições de saneamento básico, falta de acesso à água potável e condições de higiene. Essas doenças são capazes de provocar diversas patologias, como disenteria, perda de peso, anemia, déficit no aprendizado e redução na produtividade, por infecções como na ascaridíase, escabiose, giardíase e amebíase, dentre outras (HAMARSHEH; AMRO, 2020).

Tendo em vista a importância de se controlar essas doenças, a Organização das Nações Unidas (ONU) prevê alguns objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) para diminuir ou erradicar a pobreza, garantir a proteção do meio ambiente e controlar as mudanças climáticas. Dentre esses objetivos estão a garantia de água potável, saneamento básico e a redução das desigualdades, sejam elas sociais ou econômicas. Além disso, é almejada a diminuição da pobreza, a sustentabilidade na agricultura e a erradicação da fome (MARQUES, 2019). Para alcançar grande parte destes objetivos é necessário, dentre outros fatores, especial atenção as infecções causadas por helmintos.

Geohelmintos são um grupo de parasitos que possuem parte do seu desenvolvimento no solo e são transmitidos através do mesmo. Esses parasitos representam um problema de saúde pública, visto que mais de 1 bilhão de pessoas da população mundial estão infectadas com geohelmintos (WHO, 2020). O geohelminto *Ascaris lumbricoides* apresenta grande importância médico-veterinária, coloniza o intestino delgado de humanos e causa a doença ascaridíase (NEVES, 2016). De acordo com a OMS, os ascaridídeos, em comparação com outros geohelmintos, representam o grupo com maior índice de infecção em âmbito mundial, com uma estimativa de 820 milhões de casos (OPAS, 2018).

A infecção por ascarídeos, também chamada de ascaridíase, ocasiona sintomas não específicos como náuseas, diarreia e vômitos (SCHINDLER-PIONTEK, 2022). A infecção se inicia através da via oral-fecal, a partir da ingestão de ovos embrionados, os quais se desenvolvem no solo e dependem de condições ambientais como temperatura e umidade. Geralmente, ao longo do período evolutivo, as larvas se desfazem de uma cutícula e sintetizam uma nova. As larvas L1 e L2 recebem o nome de larvas rhabditóides, pois apresentam esôfago com corpo, istmo e bulbo e se desenvolvem no meio ambiente no interior do ovo. As larvas L3, L4 e L5 são consideradas filarióides, pois apresentam o esôfago alongado. A única forma de infecção do *A. lumbricoides* é pela ingestão de ovos embrionados contendo a larva L3 no seu interior (DOLD; HOLLAND, 2011). Estas larvas, ao serem ingeridas, eclodem do ovo e apresentam uma fase migratória passando pelo fígado e pulmões. Ao chegarem neste órgão evoluem para L4, sobem pela árvore brônquica, podem ser deglutidas até alcançarem o intestino delgado, ou podem ser expelidas através do trato respiratório. Quando adultos, o seu período de permanência no organismo do hospedeiro é de até um ano no intestino delgado. A postura dos ovos é intensa e a quantidade pode chegar até a 200.000 ovos ovipostos diariamente por uma única fêmea. Além disso, as fezes contaminadas são as responsáveis por disseminar os ovos não embrionados que podem permanecer viáveis no ambiente por um período de até quinze anos (DOLD; HOLLAND, 2011; NEVES, 2016).

Algumas técnicas coproparasitológicas são fundamentais para o diagnóstico de *A. lumbricoides*. Por se tratar de uma técnica quantitativa, de simples execução e baixo custo, o método de Kato Katz é recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), comumente empregado para o diagnóstico de doenças transmitidas pelo contato com o solo contaminado como as geohelmintíases e esquistossomoses (BOSCH *et al.*, 2021). A técnica de McMaster (GORDON; WITHLOCK, 1939) é outra técnica quantitativa também recomendada pela OMS para determinar a quantidade de ovos helmínticos por grama de fezes para se estabelecer a carga parasitária (FERNANDES *et al.*, 2005).

A relação entre os parasitos e os seus hospedeiros está em constante evolução e leva a adaptações de ambos os lados. Neste sentido, estudiosos desenvolveram a hipótese da higiene que surgiu a partir de um estudo sobre a prevalência de asma em dois grupos populacionais distintos; um grupo proveniente de tribos nativas de áreas rurais e outro grupo de canadenses caucasianos advindos de áreas urbanas. Esse estudo observou que o principal fator para o desenvolvimento da imunidade humoral contra alergias, ocorre a partir de hábitos pessoais de

higiene, além de fatores socioeconômicos e saneamento básico, que são fundamentais para a proteção contra o contato com potenciais alérgenos e patógenos (PFEFFERLE *et al.*, 2021).

As doenças reumáticas comprometem o aparelho locomotor em geral, mas principalmente as articulações, músculos e cartilagens. Por se tratar de uma doença reumatológica crônica, o lúpus eritematoso sistêmico possui alguns sintomas inespecíficos, como dor nas articulações e rigidez muscular (THEOFILOPOULOS *et al.*, 2017). No entanto, essa doença possui sintomas intensos característicos, como rubor no rosto, lesões por todo o corpo, dificuldade para respirar e problemas renais, que por sua vez, representam a maior causa para taxa de mortalidade de lúpus no Brasil. Isso se deve ao fato de que 4,76 óbitos/100.000 habitantes ocorrem, em grande parte, por conta da insuficiência renal que o lúpus desencadeia (COSTI *et al.*, 2017). Ademais, lúpus eritematoso sistêmico é caracterizado como uma doença autoimune, na qual autoanticorpos atuam contra antígenos próprios e desencadeiam baixa resposta imune (FORTUNA; BRENNAN, 2013).

A autoimunidade é um mecanismo no qual o organismo ataca seus próprios constituintes por reconhecê-los como uma ameaça. Autoanticorpos são moléculas criadas pelo próprio corpo, com o intuito de combater antígenos que não são estranhos, mas que a princípio são reconhecidos como tal. As doenças relacionadas com a autoimunidade são organizadas em dois grupos: órgão-específicas e sistêmicas. O diabetes tipo I, esclerose múltipla, doença de Chron e miastenia gravis são exemplos de doenças órgão-específicas, enquanto o lúpus eritematoso sistêmico, a artrite reumatoide e as espondiloartrites são doenças sistêmicas, porque afetam diversos órgãos (THEOFILOPOULOS *et al.*, 2017).

Quando o parasito consegue se estabelecer no organismo do hospedeiro, não somente para sua nutrição, como também sobrevivência a partir da modulação da resposta imune, essa capacidade é chamada de sistema de evasão. Por outro lado, o epitélio intestinal produz fatores que bloqueiam proteínas do sistema complemento. Um exemplo disso é o *intestinal trefoil fator* (ITF), uma protease importante na ativação do sistema complemento, que facilita a ação parasitária e sua nutrição, visto que o parasito se beneficia da desativação do sistema complemento para se estabelecer no hospedeiro. Assim, esse mecanismo de evasão do parasito, associado à imunossupressão causada pelo tratamento contra o lúpus eritematoso pode influenciar a evolução clínica do paciente. O indivíduo com doença autoimune apresenta exacerbação da resposta imune a partir do recrutamento de citocinas pró-inflamatórias. Por outro lado, de forma antagônica, a presença de um helminto é capaz de modular toda resposta imune de seu hospedeiro (CHULANETRA; CHAICUMPA 2021).

## 2. JUSTIFICATIVA

Considerando que grande parte da população é acometida por doenças reumatológicas autoimunes e que parasitos podem modular a resposta imune do hospedeiro, é importante entender a associação entre esses indivíduos e as doenças parasitárias, especificamente as helmínticas. A industrialização, o desenvolvimento econômico e a melhoria da infraestrutura sanitária contribuíram para a diminuição do contato com os parasitos. Tendo em vista que os parasitos são capazes de modular a resposta imune do hospedeiro, o menor contato com estes organismos sugere um aumento no número de portadores de doenças autoimunes. As doenças reumatológicas precisam ser tratadas com medicamentos imunossupressores que impedem que o organismo ataque antígenos próprios e desencadeie a autoimunidade. Nessa condição, esses pacientes estão mais predispostos à diversas infecções. Visto isso, é essencial compreender o papel do *A. lumbricoides* sobre a modulação da resposta imune nas doenças reumáticas, como o lúpus eritematoso sistêmico. Neste estudo foi avaliado se a presença de anticorpos contra o antígeno sintético (peptídeo 19) influencia o quadro clínico dos pacientes com a doença autoimune.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo geral

Avaliar a soro prevalência de anticorpos IgG séricos totais anti-*A. lumbricoides* e verificar se existe relação entre a exposição helmíntica e as condições clínicas dos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico.

### 3.2 Objetivos específicos

- 3.2.1. Padronizar reações imunoenzimáticas usando a técnica de ELISA com antígeno sintético de *A. lumbricoides*;
- 3.2.2. Definir os pacientes expostos e não expostos ao *A. lumbricoides*;
- 3.2.3. Comparar as condições clínicas entre os pacientes com lúpus, que foram expostos ou não ao *A. lumbricoides*.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 População do estudo e considerações éticas**

O estudo foi realizado com pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico, previamente triados pela área de Reumatologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU). Além disso, foram incluídas como controles negativos, amostras de soros de indivíduos não portadores de doenças crônicas.

Os indivíduos atendidos neste setor, com idade acima de 18 anos que aceitaram participar do estudo e doar suas amostras sanguíneas para as análises, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os pacientes menores de 18 anos que aceitaram participar do estudo, assinaram o termo de assentimento livre e esclarecido (TALE), do mesmo modo que seus responsáveis assinaram o TCLE a eles destinado. Este presente estudo foi enviado ao Comitê de ética em pesquisa (CEP), através da Plataforma Brasil e foi aprovado, de acordo com o parecer consubstanciado número: 5.820.607.

### **4.2 Desenho do estudo**

Esta pesquisa qualitativa contou com a participação de um grupo de pacientes, com trinta e cinco mulheres que possuem lúpus, na faixa etária de 13 a 63 anos. Estes pacientes foram submetidos à dois questionários: um questionário socioeconômico e outro questionário denominado *Health Assessment Questionnaire* (HAQ).

#### **4.2.1 Questionário socioeconômico**

Foi aplicado um questionário socioeconômico aos pacientes, para a obtenção de dados sociais e econômicos. Os pacientes foram questionados quanto à zona de habitação, idade, sexo, profissão, quantidade de moradores da residência, renda familiar, existência e quantidade de animais de estimação, verminoses e tempo de uso de vermífugos.

#### **4.2.2 HAQ**

Este questionário foi criado por James F. Fries e coleta informações sobre a condição clínica baseados em diversos parâmetros, como a capacidade de vestimenta, alimentação, higiene e caminhada. De acordo com esse questionário, o paciente escolhe, para cada categoria, um grau de dificuldade entre quatro possíveis que vão de nenhuma dificuldade até a incapacidade de realização a tarefa. Para atribuir pontuação às perguntas, cada grau de dificuldade recebe uma nota. Se o paciente relatar nenhuma dificuldade, a nota da seção é 0,

para pouca dificuldade a nota é 1, para muita dificuldade a nota é 2, e para a incapacidade de realização da tarefa a nota é 3. A pontuação final do HAQ é a média dos pontos obtidos nas oito categorias. A partir da resposta do paciente foi calculada a média para obtenção do *score* de cada categoria e o *score* total (FRIES *et al.*, 1980; CORBACHO; DAPUETO *et al.*, 2010).

### 4.3 Obtenção das amostras séricas

Os pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico inclusos no estudo forneceram suas amostras de sangue as quais foram coletadas em tubos à vácuo de 9 mL sem anticoagulante. Foi coletado um volume de, aproximadamente, 5 mL em cada tubo, identificado com o código de cada paciente e a data de coleta. As amostras foram mantidas sob refrigeração até serem processadas no Laboratório de Diagnóstico, Epidemiologia e Controle de Helminhos (LADECH) onde foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para a obtenção do soro sanguíneo. As amostras séricas foram divididas em alíquotas de, aproximadamente, 100 µL e transferidas para microtubos de propileno, identificados com o código do paciente e a data da coleta. Posteriormente, as alíquotas de soro foram armazenadas em freezers à - 20°C e - 80 °C para as posteriores análises imunológicas.

### 4.4 Antígeno sintético (peptídeo 19)

O peptídeo 19 é um antígeno sintético de *A. lumbricoides* que foi cedido pelos pesquisadores do Laboratório de Imunologia e Genômica de Parasitos (LIGP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Este antígeno foi desenvolvido a partir de sequências depositadas em bancos de dados do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* e *WormBase*. As sequências do proteoma predito de diversos nematódeos foram filtradas por ferramentas de bioinformática desenvolvidas no LIGP/UFMG, utilizando três parâmetros: 1- Apresentar mais de 100 aminoácidos; 2- Não apresentar stop códon interno (não ser pseudogene) e 3- Apresentar o stop códon na última posição da sequência, para garantir que a anotação não foi interrompida antes do fim da sequência.

Para a seleção dos peptídeos com maior *score* de ranquiamento de imunogenicidade, foi utilizado o *software* Immunorank que foi desenvolvido pelos pesquisadores do LIGP. Este programa permite a seleção de peptídeos com base em *score* de predição de epítomos lineares de células B e de desordem estrutural. A partir do proteoma predito do *A. lumbricoides*, mais de 5000 peptídeos com até 15 aminoácidos foram selecionados. O peptídeo 19 utilizado neste estudo é um desses epítomos de células B preditos. A síntese do peptídeo ocorreu a partir da técnica de *Solid Phase Peptide Synthesis* (SPSS), que acopla os aminoácidos num suporte de

resina. Com a síntese da cadeia do peptídeo de interesse, é feita a clivagem e liberação dos peptídeos da resina, com um equipamento chamado ResPep RS (Intavis) (BEHRENDT, 2016; PINTO, 2021).

#### 4.5 Detecção de imunoglobulina G (IgG)

O teste imunoenzimático *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) indireto foi empregado para detectar anticorpos do tipo imunoglobulina G (IgG) séricos totais contra *A. lumbricoides*. As amostras foram avaliadas em duplicatas usando o anticorpo secundário conjugado anti-IgG humana.

Os poços da placa de ELISA foram sensibilizados com 2 µg/poço do peptídeo 19 diluído em solução tampão de carbonato-bicarbonato de pH 9,6. Posteriormente, a placa foi incubada a 37°C *overnight*. Os poços foram bloqueados com 200 µL da solução de bloqueio constituída de leite desnatado Molico® a 5% diluído em PBS acrescido de 0,05% de Tween 20. A placa foi incubada em estufa a 37°C por uma hora e lavada quatro vezes com PBS Tween 20 a 0,05%. Os soros dos pacientes foram adicionados, em duplicata, no volume de 100 µL na diluição de 1:100, em PBS Tween20 a 0,05% e leite desnatado Molico® 1%. Posteriormente, a placa foi incubada novamente por uma hora.

O anti-IgG secundário foi adicionado no volume de 100 µL, na diluição de 1:10000 em solução de PBS com Tween20 a 0,05% acrescido com leite desnatado Molico® 1%. A placa descansou novamente durante uma hora e foi lavada quatro vezes com PBS Tween 20 a 0,05%. Em seguida, as reações colorimétricas foram obtidas adicionando-se 100 µL de uma solução contendo OPD (concentração 650 µL/ml) e 6 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> previamente diluído em 15 mL de tampão citrato-fosfato, pH 5,0. Após 15 minutos, 50 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2M) foram utilizados para parar a reação.

A absorbância foi mensurada num comprimento de onda de 490 nm com o uso de um leitor de microplacas (BIOTEK). Os resultados foram evidenciados com o *cut off* obtido pelo cálculo da média das absorbâncias dos soros negativos acrescidos de duas vezes o desvio padrão.

#### 4.6 Obtenção dos dados e análises estatísticas

O *software* Microsoft Excel foi usado para calcular as médias das absorbâncias das amostras e o desvio padrão dos controles negativos para o cálculo do *cut off* (ponto de corte). Os valores de absorbância acima do *cut off* foram considerados positivos para o anticorpo IgG

anti-*A. lumbricoides*. Posteriormente, foi calculado o índice de reatividade das amostras, no qual os resultados da reatividade dos soros foram expressos em índice de reatividade (IR) e obtida pela seguinte fórmula:  $IR = (OD \text{ média de cada amostra} / \text{cut-off})$ . As amostras com  $IR > 1$  foram consideradas positivas.

Os dados oriundos do questionário HAQ foram analisados pelo *software GraphPad-Prism 8.0*, realizando a comparação entre dois grupos (com ou sem anticorpo IgG). Primeiramente, os dados foram submetidos a testes de normalidade para verificar a sua distribuição. Constatando-se que os dados não apresentam distribuição normal as análises estatísticas foram realizadas pelo teste não paramétrico de “Mann-Whitney”. As diferenças entre os grupos com valores de  $P < 0,05$  foram consideradas estatisticamente significativas.

## 5. RESULTADOS

Foram analisados os soros de trinta e cinco pacientes do sexo feminino, com idade média de 39 anos e portadoras de lúpus, das quais, sete tiveram resposta de IgG contra *A. lumbricoides*. No que se refere aos dados socioeconômicos, todos os pacientes IgG positivos residem na zona urbana e, na população estudada, apenas uma paciente mora na zona rural. Dentre as trinta e cinco pacientes, dez haviam feito o uso de anti-helmíntico nos últimos seis meses, sendo que desses dez, quatro pacientes IgG positivos anti-*A. lumbricoides* tinham usado vermífugo há menos de seis meses.

O valor da absorbância obtida para o *cut off* foi de 0,136238 o que indica o ponto de corte para detecção do IgG anti-*A. lumbricoides*. Números abaixo desse limiar são considerados negativos e acima positivos para a presença de IgG contra *A. lumbricoides*. A partir disso, foram calculados os valores do índice de reatividade (IR) para cada amostra (Figura 1). Dentre os trinta e cinco soros analisados, sete amostras demonstraram IgG anti-*A. lumbricoides* ( $IR > 1$ ).

De acordo com o índice de reatividade é possível observar que 7 dos 35 pacientes foram identificados como IgG positivo. Isso significa que esses 7 pacientes possuíam em seu soro sanguíneo, anticorpos contra o parasito em questão, que poderiam ser advindos de um contato prévio com o parasito ou até mesmo de um quadro de ascariíase.

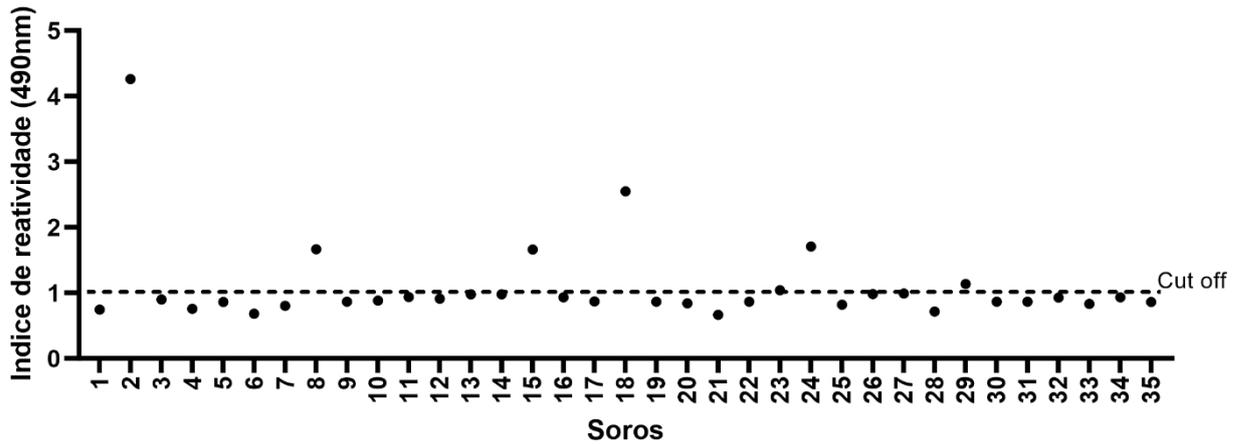


Figura 1: Índice de reatividade contra antígeno sintético (peptídeo 19) de *A. lumbricoides* indicando a detecção de IgG em soros sanguíneos de pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico.

De acordo com o questionário HAQ, quanto maior a pontuação, maior a dificuldade para a realização das tarefas, assim foi possível observar que os pacientes IgG positivos e IgG negativos anti-*A. lumbricoides* possuem níveis de dificuldades parecidos para a realização das tarefas analisadas no HAQ. São tarefas importantes no dia a dia, demandam coordenação motora, força, resistência e dão autonomia às pessoas (Figura 2).

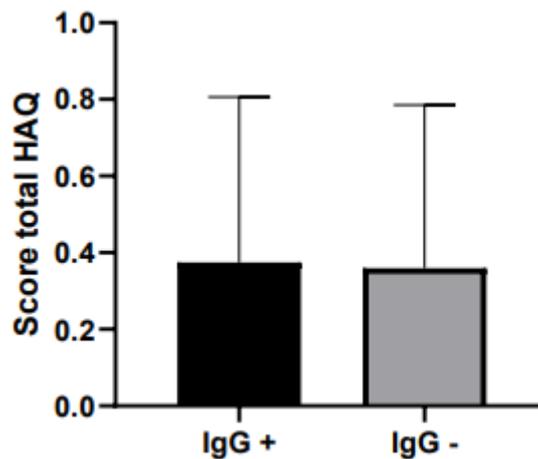


Figura 2: *Score* total no HAQ e presença de anticorpos IgG anti-*A. lumbricoides* no soro dos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico.

Não houve diferença estatística significativa entre o *score* total do HAQ dos pacientes IgG positivos e dos pacientes IgG negativos ( $p = 0,8953$ ;  $U = 94,50$ ) (Figura 2).

Sobre alcançar objetos no alto ou pegar objetos no chão, os pacientes IgG positivos e IgG negativos obtiveram resultados semelhantes, o que sugere que a exposição ou não à *A. lumbricoides* não influencia significativamente na capacidade de alcançar objetos (Figura 3-F).

A atividade de prensão compreende a capacidade de realizar movimentos que necessitem de maior força nas articulações das mãos. Tais tarefas podem incluir a abertura de potes e torneiras. Nesse quesito também não houve diferença significativa entre os grupos avaliados, mas é interessante observar que a doença pode afetar as articulações dos pacientes (Figura 3-G).

O tópico de outras atividades inclui a atividade de fazer compras, entrar e sair de um ônibus, além de utilizar vassoura e rodo. Após análise, foi possível observar que não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 3-H).

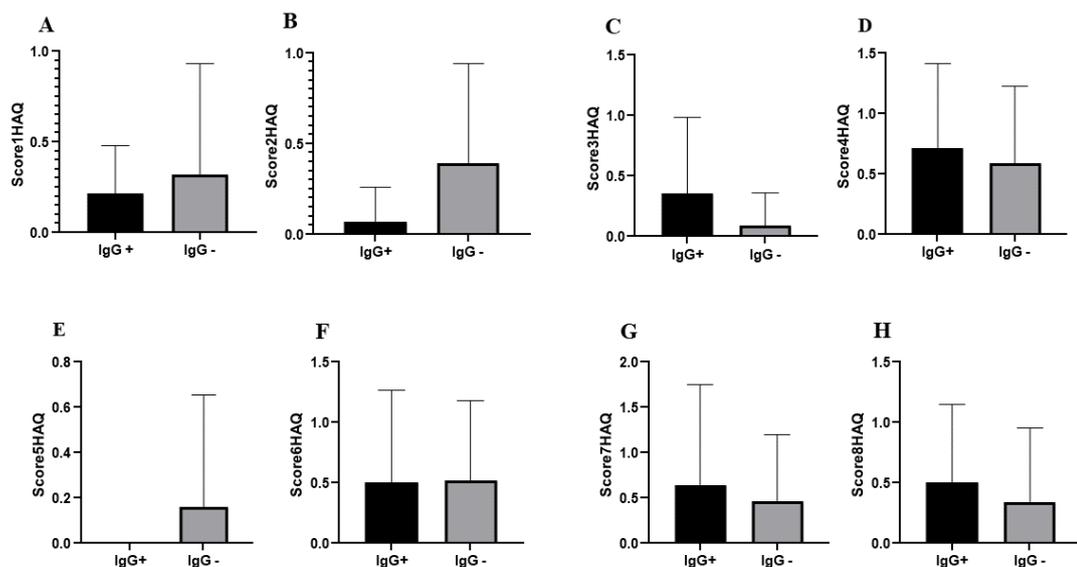


Figura 3: Comparação entre os pacientes expostos e não expostos ao antígeno de *A. lumbricoides*, de acordo com os *scores* de cada categoria avaliada no HAQ. A-H: Gráficos de *scores* das perguntas de 1 a 8 do questionário HAQ. Avaliação quanto à capacidade de: A- vestir-se e cuidar-se ( $p = 0,6761$ ;  $U = 91$ ); B – levantar-se ( $p = 0,1541$ ;  $U = 66,50$ ); C – comer ( $p = 0,1074$ ;  $U = 78,50$ ); D – caminhar ( $p = 0,6327$ ;  $U = 87$ ) E – higiene ( $p = 0,5957$ ;  $U = 87,50$ ) ; F – alcançar objetos ( $p = 0,8721$ ;  $U = 93,50$ ); G – prensão ( $p = 0,8894$ ;  $U = 95$ ); H – outras atividades ( $p = 0,5046$ ;  $U = 84,50$ ). As análises estatísticas não indicaram diferenças significativas entre os grupos analisados.

O *score* de dor avaliou a intensidade da dor numa escala de 0 a 10, onde 0 era nenhuma dor e 10 era a pior dor possível. Assim, foi possível mensurar a dor que o paciente sentia em

decorrência da doença autoimune. A atividade da doença refere-se ao quanto o paciente considera que a inflamação ainda é forte e, conseqüentemente, o quanto sua doença está ativa. Dessa forma numa escala de 0 a 10, os pacientes indicaram a atividade da doença.

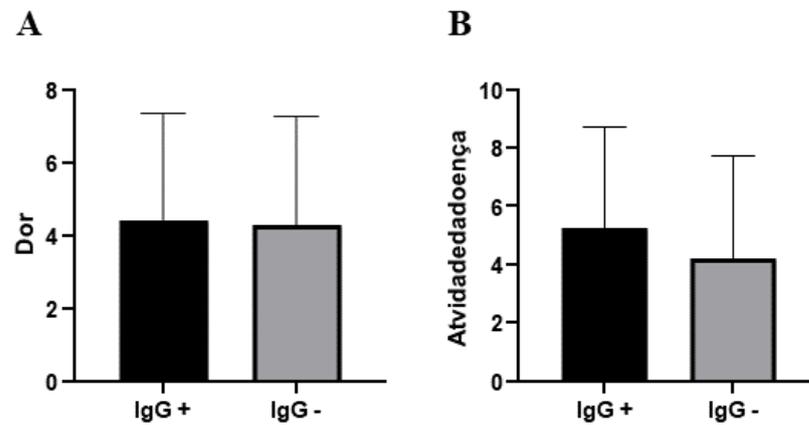


Figura 4: Gráfico para a comparação de dor (A) ( $p = 0,92,75$ ;  $U = 95,50$ ) e gráfico para atividade do lúpus eritematoso sistêmico em pacientes IgG positivos e IgG negativos (B) ( $p = 0,4970$ ;  $U = 81$ ). Não houve diferença estatisticamente significativa.

Após os testes realizados foi demonstrado que a soroprevalência da IgG anti-*A. lumbricoides* nos pacientes avaliados foi de 20% (7 em 35 pacientes). No entanto, de acordo com as análises dos dados obtidos por meio do questionário HAQ, não houve diferenças significativas entre os pacientes expostos (IgG+) e não expostos (IgG-) ao *A. lumbricoides* em relação a intensidade dos sintomas clínicos do lúpus eritematoso sistêmico.

## 6. DISCUSSÃO

Mundialmente, estima-se que cerca de 800 milhões de indivíduos foram infectados pelo *A. lumbricoides*. Na América Latina, a prevalência estimada é de 20% (OPAS, 2018; SABOYÁ, *et al.*, 2013). Essas estimativas são muito heterogêneas dentro de uma determinada área, especialmente em países com desigualdades sociais e econômicas como o Brasil. Neste estudo, a soroprevalência identificada nos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico foi de 20%. Isso indica que 20% destes pacientes tiveram contato, em algum momento ao longo da sua vida, com o *A. lumbricoides*.

Ao se comparar esses resultados com os de outros estudos, é possível observar que o N amostral pode ser um fator essencial para a análise da soroprevalência. Dados de um estudo

feito no Caribe mostram que, o *A. lumbricoides* foi detectado em todos os 10 países, numa população de 435 gestantes, onde 37% estava infectada com *A. lumbricoides*. A partir disso, é possível relacionar esses dados, com a prevalência mundial de *A. lumbricoides* e sugerir que estudos com N amostral significativo podem demonstrar melhor a prevalência de *A. lumbricoides* em determinados países e regiões (GUO, *et al.*, 2016).

Outro ponto a ser destacado é que, muitas vezes, a soroprevalência pode ser o melhor parâmetro para se identificar a quantidade de indivíduos expostos aos parasitos. Isso pôde ser observado em um estudo que comparou a soroprevalência e a coproprevalência numa população de estudantes da Etiópia. Onde foi visto que, para 85% dos geohelminhos, a prevalência na sorologia foi maior, se comparado com a dos exames coproparasitológicos (ROOSE *et al.*, 2022)

A hipótese da higiene pressupõe que os indivíduos expostos a patógenos possuem menor chance no desenvolvimento de doenças, como as doenças alérgicas (PFEFFERLE *et al.*, 2021). De acordo com os resultados obtidos neste estudo, 7 dos 35 pacientes com lúpus foram expostos ao *A. lumbricoides*. Estes dados não nos permitiram verificar a correlação proposta pela hipótese da higiene porque os dois grupos estudados (expostos e não expostos ao *A. lumbricoides*) tiveram limitações parecidas, de acordo com os resultados do questionário HAQ. Novos estudos com um N amostral maior, incluindo outros elementos da resposta imune, são necessários antes de refutar essa relação. Outra possibilidade para explicar a baixa correlação entre exposição ao *A. lumbricoides* e proteção clínica no lúpus seria que os diferentes patógenos influenciam de forma distinta as diversas doenças autoimunes, ou seja, nem todos os helmintos tem a mesma capacidade de modular a resposta inflamatória nas diferentes doenças autoimunes. Como os helmintos regulam uma variedade de desordens inflamatórias e doenças autoimunes ainda é desconhecido (GUIMARÃES; NUTMAN, 2018) e muitas vezes com resultados controversos (SMALLWOOD *et al.*, 2017).

É importante ressaltar que o ato de levantar os braços ou curva-se para pegar algo no chão está relacionado com a dificuldade motora que os portadores de lúpus podem apresentar, por conta da rigidez muscular e as dores nas articulações (THEOFILOPOULOS *et al.*, 2017).

Por se tratar de uma doença autoimune, o lúpus eritematoso sistêmico caracteriza-se pela presença de autoanticorpos antinucleares, células T autorreativas e deposição de imunocomplexos. A resposta imune inata é crucial em pacientes com lúpus, porque células T e B com disfunção perdem a tolerância aos autoantígenos, o que ativa o sistema imune inato e

adaptativo. As células dendríticas migram até os tecidos linfoides, ativam os linfócitos T e B; e interagem com outras moléculas presentes no epitélio das mucosas, que produzem citocinas pró-inflamatórias, como IL-17, TNF e INFs (HERRADA et al., 2019).

Em relação à resposta imune em pacientes expostos a *A. lumbricoides*, os anticorpos IgM e IgG não conseguem atuar contra este parasito enquanto ele estiver nos órgãos viscerais. Por outro lado, a IgA produzida também não é capaz de ativar o sistema complemento. Esses fatores em conjunto possibilitam a modulação do sistema imune do hospedeiro, por parte do parasito (CHULANETRA; CHAICUMPA 2021).

Assim, apesar da relação entre a resposta imune no lúpus e a resposta imune nos pacientes expostos, não foi possível observar uma relação positiva entre a exposição antigênica ao *A. lumbricoides* e a proteção fisiológica em pacientes com lúpus. Tal fato pode ser explicado devido ao lúpus o lúpus eritematoso sistêmico ser uma doença sistêmica, afetando todo o corpo e não somente as articulações das mãos, braços e pés (FORTUNA; BRENNAN, 2013).

Por ser uma doença sistêmica, o lúpus pode influenciar o organismo como um todo. Por isso o paciente sem tratamento adequado, tem seus órgãos comprometidos, além de ficar debilitado para realizar tarefas que demandem capacidade motora. Dessa forma, é possível que os dados clínicos dos pacientes e as correlações avaliadas tenham sido influenciados até mesmo pelos medicamentos imunossupressores que muitos pacientes fazem uso (THEOFILOPOULOS et al., 2017).

Por se tratar de um conceito subjetivo, a inflamação e a atividade da doença geravam um pouco de dúvida nos pacientes, que muitas vezes, consideravam todos os sintomas causados pela doença, para responder ao questionamento. É necessário destacar que por se tratar de um conceito amplo, o termo inflamação pode variar de acordo com a forma que o paciente percebe os sintomas que possui e esse é um ponto importante, que pode ter definido os resultados desse quesito. Dessa forma, a exposição a esse parasito pode ou não influenciar na progressão da doença causada pela inflamação, mas ainda assim, é um dado que não pode ser analisado de maneira isolada, já que cada paciente possui um limiar e um entendimento próprio sobre inflamação.

## 7. CONCLUSÃO

Após os testes realizados, não foi possível verificar a correlação entre exposição ao *A. lumbricoides* e proteção fisiológica em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. Entretanto, novos trabalhos ampliando o número de pacientes avaliados e outros aspectos da resposta imune são necessários para investigar melhor essa relação.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEHRENDT, Raymond *et al.* Advances in Fmoc solid-phase peptide synthesis. **Journal Of Peptide Science**, Schaffhausen, v. 22, p. 4–27, 2016. <https://doi.org/10.1002/psc.2836>.
- BOSCH, Felix *et al.* Diagnosis of soil-transmitted helminths using the kato-katz technique: What is the influence of stirring, storage time and storage temperature on stool sample egg counts?. **Plos Neglected Tropical Diseases**, Basel, v. 15, n. 1, p. 1–17, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009032>.
- CHULANETRA, Monrat; CHAICUMPA, Wanpen. Revisiting the Mechanisms of Immune Evasion Employed by Human Parasites. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Bangkok, v. 11, p. 1–32, 2021. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.702125>.
- CORBACHO, Maria; Dapuetto, João. Avaliação da capacidade funcional e da qualidade de vida de pacientes com artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, Montevideu, v. 50, n. 1, p. 31-43, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000100004>.
- COSTI, Luisa Ribeiro *et al.* Mortalidade por lúpus eritematoso sistêmico no Brasil : avaliação das causas de acordo com o banco de dados de saúde do governo. **Revista Brasileira de Reumatologia**, Belém, v. 57, n. 6, p. 574–582, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2017.05.007>.
- DOLD, Christina; HOLLAND, Celia. Ascaris and ascariasis. **Microbes and Infection**, Dublin, v. 13, n. 7, p. 632–637, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.09.012>.
- FERNANDES, Rozeverter *et al.* Comparação entre as técnicas mcmaster e centrífugo-flutuação para contagem de ovos de nematóides gastrintestinais de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, Teresina, v. 6, n. 2, p. 105–109, 2005.
- FORTUNA, Giulio; BRENNAN, Michael T. Systemic lupus erythematosus. **Dental Clinics of North America**, Charlotte, v. 57, n. 4, p. 631–655, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2013.06.003>.
- FRIES, James *et al.* Measurement of patient outcome in arthritis. **Arthritis & Rheumatism**, California, v. 23, n. 2, p. 137-145, 1980. <https://doi.org/10.1002/art.1780230202>.
- GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H. V. A new technique four counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Science Industry Research**, Sidney, v.12, n.1, p. 50-52, 1939.
- GUIMARÃES, Pedro; NUTMAN, Tomas. Helminth parasites and immune regulation. **F1000 research**, Bethesd, v. 7, p. 1685, 2018. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15596.1>.
- GUO, Zhu *et al.* Seroprevalence of five parasitic pathogens in pregnant women in ten Caribbean countries. **Parasitology Research**, College Station, v. 116, p. 347–358, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5297-6>.
- HAMARSHEH, Omar; AMRO, Ahmad. Epidemiology of parasitic infections in the West Bank and Gaza Strip, Palestine. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Jerusalem , v. 102, n. 2, p. 313–317, 2020. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0545>.
- HERRADA, Andrés *et al.* Innate Immune Cells' Contribution to Systemic Lupus Erythematosus. **Frontiers In Immunology**, Talco, v. 10, p. 10-18, 2019. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00772>.
- MARQUES, Marcelo Filipe Carvalho. **Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU: desafios ao desenvolvimento tecnológico e à inovação empresarial**. 2019. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Qualidade e Ambiente, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Lisboa, 2019.
- MASCARINI, Luciene. Uma abordagem histórica da trajetória da parasitologia. **Ciência & Saúde Coletiva**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 809-814, 2003. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232003000300015>.
- NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana**. 13ª ed, Rio de Janeiro: Atheneu, 2016, 588 p.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Diretrizes: Quimioterapia preventiva para o controle de infecções por helmintos transmitidos pelo contato com o solo em grupos de risco**. Washington, 2018.
- PFEFFERLE, Petra *et al.* The Hygiene Hypothesis – Learning From but Not Living in the Past. **Frontiers In Immunology**, Marburg, v. 12, p. 17-22, 2021. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.635935>.

PINTO, Carlos Jose Carvalho *et al.* **Parasitologia**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. Biologia/EaD/UFSC, 2011. 134 p.

PINTO, Jordânia Costa. **SELEÇÃO DE PEPTÍDEOS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NO DIAGNÓSTICO DE GEOHELMINTÍASES**. 2021. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

ROOSE, Sara *et al.* Comparison of coprovalence and seroprevalence to guide decision-making in national soil-transmitted helminthiasis control programs: Ethiopia as a case study. **Plos Neglected Tropical Diseases**, Merelbek, v. 16, n.10, p. 27-46, 2022. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010824>.

SABOYÁ, Martha *et al.* Update on the Mapping of Prevalence and Intensity of Infection for Soil-Transmitted Helminth Infections in Latin America and the Caribbean. **Plos Neglected Tropical Diseases**, Columbia, v. 7, p. 19-27, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002419>.

SCHINDLER-PIONTEK, Markus *et al.* Ascariasis, a review. **Medical Ultrasonography**, Mannheim, v. 24, n. 3, p. 329–338. 2022. <https://doi.org/10.11152/mu-3343>.

SMALLWOOD, Taylor *et al.* Helminth immunomodulation in autoimmune disease. **Frontiers In immunology**, Brisbane, v. 8, p. 48-62, 2017. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00453>.

THEOFILOPOULOS, Argyrios *et al.* The Multiple Pathways to Autoimmunity. **Nature Immunology**, California, v. 18, n. 7, p. 716–724, 2017. <https://doi.org/10.1038/ni.3731>.

WHO - World Health Organization. **Soil-transmitted helminth infections**. Geneva, 2020.

## 9. ANEXOS:

### 9.1 ANEXO 1: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

#### 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

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](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](mailto: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

## 9.2 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](mailto: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

### 9.3 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 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, 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](mailto: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

## 9.4 ANEXO 4 – 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:** \_\_\_\_\_**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

## 9.5 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:

<b>VOCÊ É CAPAZ DE:</b>	<b>sem dificuldade</b>	<b>com pouca dificuldade</b>	<b>com muita dificuldade</b>	<b>não consigo</b>
<b>Vestir-se e cuidar-se</b>				
1- Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar suas roupas?	_____	_____	_____	_____
2- Lavar sua cabeça e seus cabelos?	_____	_____	_____	_____
<b>Levantar-se</b>				
3- Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços?	_____	_____	_____	_____
4- Deitar-se e levantar-se da cama?	_____	_____	_____	_____
<b>Cosar</b>				
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?	_____	_____	_____	_____
<b>Caminhar</b>				
8- Caminhar em lugares planos?	_____	_____	_____	_____
9- Subir 5 degraus?	_____	_____	_____	_____
<b>Higiene</b>				
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?	_____	_____	_____	_____
<b>Atingir</b>				
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?	_____	_____	_____	_____

0117 / 1998-01 - 010117

VOCÊ É CAPAZ DE :	sem dificuldade	com pouca dificuldade	com muita dificuldade	não consigo								
<b>preensão</b>												
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?	_____	_____	_____	_____								
<b>outras atividades</b>												
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?	_____	_____	_____	_____								
<b>Como você está se sentindo hoje em comparação a um mês atrás?</b>												
- 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	_____											
<b>Quando você está satisfeito com a sua capacidade de fazer as suas tarefas cotidianas?</b>												
- muito satisfeito	_____											
- pouco satisfeito	_____											
- pouco insatisfeito	_____											
- muito insatisfeito	_____											
<b>Quanta dor nas juntas você teve na semana passada? Coloque um risco na escala abaixo para indicar a intensidade a sua dor :</b>												
nenhuma dor	-----									a pior dor possível		
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>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:</b>												
nenhuma atividade	-----									a máxima atividade possível		
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<b>AGRADECEMOS SUA COLABORAÇÃO</b>												