Yelina Brito Elizardez

**Caracterização da imunogenicidade de proteínas recombinantes da
Proteína de Superfície do Merozoíto 1 de *Plasmodium malariae* (PmMSP1)
em modelo BALB/c**

Dissertação apresentada ao Instituto de Medicina
Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Doenças Tropicais
e Saúde Internacional

Orientador: Profa. Dra. Karin Kirchgatter
Co-orientador: Prof. Dr. Gerhard Wunderlich

São Paulo

2016

Ficha catalográfica
Preparada pela Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da
Universidade de São Paulo
© Reprodução autorizada pelo autor

Elizardez, Yelina Brito

Caracterização da imunogenicidade de proteínas recombinantes da Proteína de Superfície do Merozoíto 1 de *Plasmodium malariae* (PmMSP1) em modelo BALB/c / Yelina Brito Elizardez. – São Paulo, 2016.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional

Orientadora: Karin Kirchgatter

Co-orientador: Gerhard Wunderlich

Descritores: 1. PLASMODIUM MALARIAE. 2. PROTEÍNAS RECOMBINANTES. 3. IMUNIZAÇÃO. 4. CAMUNDONGOS. 5. ELISA. 6. IMUNOFLUORESCÊNCIA

USP/IMTSP/BIB-13/2016.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Programa Estudantes-Convênio de Pós-Graduação – PEC-PG, da CAPES/CNPq - Brasil

*Dedico este trabalho
à minha família e amigos!*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Karin Kirchgatter por sua orientação, suporte profissional, confiança e apoio pessoal neste tempo de trabalho, um agradecimento especial. Foi um prazer desenvolver este trabalho sob sua orientação.

Ao Prof. Dr. Gerhard Wunderlich por sua co-orientação que foi essencial para o desenvolvimento deste projeto, por todos seus conselhos e discussões durante todo o percurso do trabalho.

Ao MsC. Wesley Fotoran por estar presente durante todo o percurso e por ter me ensinado os passos principais deste trabalho e sua amizade.

À Dra. Izilda Curado, ao Dr. Andrés Jimenez, ao Dr. Norival Kesper Junior e ao biomédico Irineu Romero Neto, meus agradecimentos pela colaboração.

Agradeço ao meu querido grupo de pesquisa formado por Msc Lilian Guimarães de Oliveira, bióloga Eliana Monteiro, bióloga Rose Simões e Dra. Carolina Romeiro por todo o suporte e contribuições durante este tempo de convivência.

Meus agradecimentos especiais ao grupo UDD formado por o biólogo Wolfgang Fischer, MsC. Rosana Duque, MsC. Tatiane Macedo, MsC. Eliana Galindo, MsC. Sory Bosch, MsC. Kamila Meissner, Dra. Flavia Menezes, MsC. Jasmin Lindner, MsC. Marleen Linzk, MsC. Isadoura Prata e aos alunos de intercâmbio por terem me recebido tão bem e por proporcionarem um ambiente de trabalho produtivo e divertido.

Agradeço a MsC. Monica Rodriguez e a MsC. Irina Dobrescu pela sua ajuda e amizade.

Agradeço meus eternos queridos amigos, Lainet Merencio, Abel Magdariaga, Yaisa Castillo, Dayana Montero, Elena Santiesteban, Rodolfo Valiente, Fernando Rechetti, Robson Aleixo pelo seu incentivo e apoio durante esse caminho.

Agradeço aos meus pais Gricel e Guadalupe e a minha família por toda confiança e por acreditar em mim.

Devo tudo a isso a todos vocês!

A todos o meu muito obrigada.

RESUMO

ELIZARDEZ YB. Caracterização da imunogenicidade de proteínas recombinantes da Proteína de Superfície do Merozoíto 1 de *Plasmodium malariae* (PmMSP1) em modelo BALB/c (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2016.

Plasmodium malariae é responsável por uma baixa porcentagem de casos clínicos de malária, mas tem uma distribuição global ampla e fragmentada. Humanos podem abrigar o parasita por anos sem produzir sintomas significantes, o que dificulta o diagnóstico e consequente controle da doença. Por esta razão, a incorporação de antígenos de *P. malariae* nas estratégias em curso para produção de uma vacina é altamente recomendada. Embora a proteína de superfície do merozoíto1 (MSP1) de *P. vivax* e *P. falciparum* sejam amplamente estudadas como candidatos a vacinas, potencializando a resposta imune em camundongos e macacos, a MSP1 de *P. malariae* tem sido negligenciada. Portanto, este estudo visou caracterizar a imunogenicidade de proteínas recombinantes da MSP1 de *P. malariae* em camundongos BALB/c. Cinco regiões da PmMSP1 (N-terminal, F1; repetições em *tandem*, F2; central, F3 e C-terminal, F4 e PmMSP1₁₉) foram clonadas em vetor pGEX-3Y e expressas em *Escherichia coli* em fusão com GST. As proteínas recombinantes foram produzidas por fermentação e purificadas, fornecendo um alto rendimento de antígenos solúveis. Essas proteínas recombinantes e GST sozinha (grupo controle) foram usadas para imunizar, pela via intraperitoneal, seis grupos de camundongos BALB/c em 3 doses com intervalos de 14 dias. A especificidade e as subclasses dos anticorpos foram avaliadas por *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), utilizando as proteínas recombinantes como antígenos. A resposta imune celular foi analisada pelo ensaio de linfoproliferação e os níveis de citocinas Th1/Th2 nos sobrenadantes de culturas de esplenócitos foram detectados por citometria. Nossos resultados demonstraram que as regiões F1, F2, F3, F4 e PmMSP1₁₉ são imunogênicas em camundongos com a capacidade de produzir respostas imunes humorais e celulares, como mostrado pelos altos títulos de anticorpos (1/809,000) e pela proliferação de linfócitos. As respostas imunes induzidas alcançaram níveis máximos após três doses imunizantes permanecendo altas por 70 dias. Os anticorpos induzidos após imunização com as regiões F1, F2, F3 e F4 mostraram afinidades similares aos antígenos alvo, mas anticorpos induzidos após imunização com PmMSP1₁₉ mostraram uma afinidade mais alta com o antígeno alvo. Análise das subclasses de IgG mostrou que todas as proteínas recombinantes induziram padrões similares de anticorpos onde IgG1, IgG2a e IgG2b foram mais

predominantes, caracterizando uma resposta mista de Th1/Th2. Além disso, a imunização dos camundongos com as proteínas recombinantes e estimulação com os mesmos antígenos promoveu produção de IL-4. Os níveis das citocinas Th1/Th2 não mostraram diferenças significativas quando comparados entre os grupos. A proliferação dos linfócitos estimulados com F2, F3 e PmMSP1₁₉, foi maior que aquela dos estimulados com F1, F4 e GST. Ainda, todos os soros dos animais imunizados com as cinco proteínas recombinantes de PmMSP1, que foram positivos por ELISA, mostraram reatividade com esquizontes de *P. brasilianum* nos ensaios de imunofluorescência (IFA). As proteínas recombinantes de PmMSP1 reagiram com anticorpos IgG nas amostras de soro de indivíduos expostos a *P. malariae* com alta especificidade comparado a amostras de soro de indivíduos com doenças não relacionadas. Entretanto, as regiões F1 e F2 e PmMSP1₁₉ foram reconhecidas por soros de pacientes com *P. malariae* com os títulos mais altos e não apresentaram reconhecimento em soros de pacientes com *P. falciparum* e *P. vivax*. Esses dados reforçam a utilidade destas proteínas como marcadores diagnósticos de *P. malariae* em estudos epidemiológicos ou no diagnóstico diferencial da malária causada por esta espécie. No entanto, a região F4 foi reconhecida igualmente em soros homólogos ou heterólogos e, portanto, poderia ser útil para testes *point-of-care* para o diagnóstico de malária. A imunização com as diferentes proteínas recombinantes de PmMSP1 promove uma resposta imune humoral significativa, com altos e específicos níveis de IgG, além de uma distribuição de subclasses balanceada, fornecendo evidências de potenciais candidatos a uma vacina contra *P. malariae*.

Descritores: Plasmodium malariae. Proteínas Recombinantes. Imunização. Camundongos. ELISA. Imunofluorescência.

ABSTRACT

ELIZARDEZ YB. Recombinant proteins of *Plasmodium malariae* Merozoite Surface Protein1 (PmMSP1): Characterization of Immunogenicity in the BALB/c model (dissertation). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2016.

Plasmodium malariae is responsible for a low percentage of clinical malaria cases and has a patchy distribution in the world. Humans can host the parasite for years without presenting significant symptoms, which turns its diagnosis and control a difficult task. For this reason, the incorporation of *P. malariae* antigens in vaccination strategies is highly recommended. Although the merozoite surface protein 1 (MSP1) of *P. vivax* and *P. falciparum* are widely studied as vaccine candidates, potentiating the immune response in mice and monkeys, *P. malariae* MSP1 has been neglected. Herein we invested in the characterization of the immunogenicity of recombinant proteins of *P. malariae* MSP1 in BALB/c mice. Five regions of PmMSP1 (N-terminus, F1; tandem repeat, F2; central region, F3 and C-terminus, F4 and PmMSP1₁₉) were cloned into vector pGEX-3Y and expressed in *Escherichia coli* in fusion with GST. Recombinant proteins were produced by fermentation and purified, providing a high yield of soluble antigens. These recombinant proteins and GST alone (control group) were used to immunize, via the intra-peritoneal route, six groups of BALB/c mice in three doses at 14-day intervals. The specificity and subtyping of the antibodies were evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), using the recombinant proteins as antigens. Cellular immune responses were analyzed by lymphoproliferation assays and the Th1/Th2 cytokine levels in the supernatant of splenocyte cultures were detected by cytometry. Our results demonstrated that F1, F2, F3, F4 regions and PmMSP1₁₉ are immunogenic in mice with the capacity to elicit humoral and cellular immune responses, as denoted by high antibody titers (1/809,000) and the proliferation of lymphocytes. The induced immune responses reached maximum levels after three doses remaining high for 70 days. Antibodies induced after immunization with F1, F2, F3 and F4 regions showed similar affinities to the target antigens, but antibodies induced after immunization with PmMSP1₁₉ showed a higher affinity to the target antigen. Analysis of IgG subclasses showed that all the recombinant proteins induced similar antibody subclass patterns where IgG1, IgG2a and IgG2b were most predominant, characterizing a Th1/Th2 mixed response. Furthermore, immunization of mice with the recombinant proteins upon stimulation with the same antigen secreted IL-4. The levels of Th1/Th2 cytokines did not show significant differences when compared among

groups. The proliferation of the stimulated lymphocytes, with F2, F3 and PmMSP1₁₉, was greater than those stimulated with F1, F4 or GST. Additionally, all sera from mice immunized with the five PmMSP1 recombinant proteins, which were positive by ELISA, showed reactivity with *P. brasilianum* schizonts by immunofluorescence assays (IFA). The PmMSP1 recombinant proteins reacted with IgG antibodies in serum samples from individuals exposed to *P. malariae* infections with a high specificity compared to serum samples from individuals with unrelated diseases. However, the F1 and F2 regions and PmMSP1₁₉ showed the highest titers in addition to no recognition by sera from *P. falciparum* and *P. vivax* infections. These data strengthen the usefulness of these proteins as diagnostic markers of *P. malariae* in epidemiological studies or in the differential diagnosis of malaria caused by this species. Nevertheless, the F4 region was recognized equally in homologous or heterologous sera, and thus, could be useful for point-of-care tests for malaria diagnosis. Immunization with the different PmMSP1 recombinant proteins promotes a significant humoral immune response, with high and specific IgG levels, in addition, a balanced subclass distribution, suggesting them as potential candidates for a vaccine against *P. malariae*.

Descriptors: Plasmodium malariae. Recombinant Proteins. Immunization. Mice. ELISA. Immunofluorescence.

6 CONCLUSÕES

6.1 As proteínas recombinantes foram obtidas em *E. coli* com elevado rendimento e boa pureza e apresentaram poucos produtos de degradação;

6.2 As proteínas recombinantes F1, F2, F4 e PmMSP1₁₉ foram imunogênicas em animais BALB/c em presença dos adjuvantes MPLA e IFA;

6.3 De um modo geral, as proteínas recombinantes de diferentes regiões da PmMSP1 foram imunogênicas, induzindo nos animais imunizados uma resposta imunológica potente, tanto de células T como de células B. Soros dos animais imunizados reconheceram a proteína nativa;

6.4 A PmMSP1₁₉ foi reconhecida por soros de indivíduos com malária causada por *Plasmodium malariae* e não por soros de indivíduos com malária *falciparum* ou malária *vivax*. Essa especificidade é importante e sinaliza para uma possível utilização na elaboração de testes diagnósticos para malária e em estudos epidemiológicos;

6.5 Este estudo representa um passo importante na avaliação da PmMSP1 como candidata potencial para a elaboração de uma vacina contra a malária. Entretanto, ensaios funcionais devem ser desenvolvidos visando avaliar mais amplamente o seu potencial e limitações.

7 REFERÊNCIAS

1. White NJ, Pukrittayakamee S, Hien TT, Faiz MA, Mokuolu OA, Dondorp AM. Malaria. *Lancet*. 2014; 383(9918):723–35.
2. World Health Organization. World Malaria Report. Geneva: WHO; 2015.
3. Malária: Monitoramento dos casos no Brasil em 2014. *Bol Epidemiol*. 2015; 46:25.
4. Oliveira-Ferreira J, Vargas-Serrato E, Barnwell JW, Moreno A, Galinski MR. Immunogenicity of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein-9 recombinant proteins expressed in *E. coli*. *Vaccine*. 2004; 22(15-16):2023-30.
5. Curado I, Duarte AM, Lal AA, Oliveira SG, Kloetzel JK. Antibodies anti bloodstream and circumsporozoite antigens (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium malariae*/P. *brasiliense*) in areas of very low malaria endemicity in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997 Mar-Apr;92(2):235-43.
6. Marques G, Condino MLF, Serpa LLN, Cursino TVM. Aspectos epidemiológicos de malária autóctone na mata atlântica, litoral norte, Estado de São Paulo, 1985 – 2006. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41:386-9.
7. Coatney GR, Collins WE, Warren M, Contacos PG. The Primates Malaria. Bethesda: National Institutes of Health; 1971.
8. Collins WE, Jeffery GM. *Plasmodium malariae*: parasite and disease. *Clin Microbiol Rev*. 2007; 20(4):579-92.
9. Antinori S, Galimberti L, Milazzo L, Corbellino M. Biology of human malaria plasmodia including *Plasmodium knowlesi*. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2012; 4(1):e2012013.
10. Vinetz JM, Li J, McCutchan TF, Kaslow DC. *Plasmodium malariae* infection in an asymptomatic 74-year-old Greek woman with splenomegaly. *N Engl J Med*. 1998; 338:367-71.
11. Werndorfer WH, MacGregor I. Malaria: Principles and Practice of Malariology. London: Churchill Livingstone; 1988.
12. Kirchgatter K, Nogueira SL, Padilha A, Curado I, Boulos M, Di Santi SM. Lethal malaria caused by *Plasmodium malariae* in an asplenic patient in Brazil. *BMJ*. 2005; 331(7516):576b.
13. Langford S, Douglas NM, Lampah DA, Simpson JA, Kenangalem E, Sugiarto P, et al. *Plasmodium malariae* infection associated with a high burden of anemia: a hospital-based surveillance study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9:e0004195.

14. Savargaonkar D, Shah N, Das MK, Srivastava B, Valecha N. *Plasmodium malariae* infection: a case of missed diagnosis. J Vector Borne Dis. 2014; 51:149–51.
15. Badiane AS, Diongue K, Diallo S, Ndongo AA, Diedhiou CK, Deme AB, Ma D, et al. Acute kidney injury associated with *Plasmodium malariae* infection. Malar J. 2014;13:226.
16. Di Santi SM, Carvalho ME, Costa MJ, Kirchgatter K, Pereira BF, Toniolo C, et al. Malária transfusional causada por *Plasmodium malariae* transmitido por doador assintomático infectado na Mata Atlântica do Estado de São Paulo. In: XL Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e I Encontro de Medicina Tropical do Cone Sul, 2005; Florianópolis; Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2005 Mar 6-10. Abstract PR75. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(Suppl 1):333.
17. Scuracchio P, Vieira SD, Dourado DA, Bueno LM, Colella R, Ramos-Sanchez EM, et al. Transfusion-transmitted malaria: case report of asymptomatic donor harboring *Plasmodium malariae*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2011; 53(1):55-9.
18. de Pina-Costa A, Brasil P, Di Santi SM, de Araujo MP, Suárez-Mutis MC, Santelli AC, Oliveira-Ferreira J. Malaria in Brazil: what happens outside the Amazonian endemic region. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014;109(5):618-33.
19. Krettli AU, Andrade-Neto V, Brandão MGL, Ferrari WMS. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96(8):1033-42.
20. Maguire JD, Lacy MD, Sururi, Sismadi P, Krisin, Wiady I, Laksana B, Bangs MJ, et al. Chloroquine or sulfadoxine-pyrimethamine for the treatment of uncomplicated, *Plasmodium falciparum* malaria during an epidemic in Central Java, Indonesia. Ann Trop Med Parasitol. 2002 Oct; 96(7):655-68.
21. Barnish G, Maude GH, Bockarie MJ, Eggelte TA, Greenwood BM. The epidemiology of malaria in southern Sierra Leone. Parassitologia. 1993 Jul; 35 Suppl:1-4.
22. Gregson A, Plowe CV. Mechanisms of resistance of malaria parasites to antifolates. Pharmacol Rev. 2005; 57: 117–45.
23. Feachem R, Sabot O. A new global malaria eradication strategy. Lancet. 2008 May; 371(9624):1633–5.
24. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde Manual de diagnóstico laboratorial da malária. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

25. Sulzer, AJ, Wilson, M, Hall, EC. Indirect fluorescent-antibody test for parasitic diseases. An evaluation of a thick-smear antigen in the IFA test for malaria antibodies. *Am J Trop Med Hyg.* 1969;18:199-205.
26. Rodrigues MHC, Cunha MG, Machado RLD, Ferreira Jr OC, Rodrigues MM, Soares IS. Serological detection of *Plasmodium vivax* using recombinant of the merozoite surface protein-1. *Malaria J.* 2003;2:39-45.
27. Anaissi AKM, Medina TS, Silva ES, Souza JM, Silva IAB, Cunha MG. Reconhecimento da região C-terminal da proteína 1 da superfície de merozoítas de *Plasmodium vivax* por anticorpos IgG e IgM de indivíduos primoinfectados. X Reunião Nacional de Pesquisa em Malária. *Rev Bras Med Trop.* 2007;40(2):102-102.
28. Silva ES, Costa SPT, Povia MM, Cunha MG. Cunha. Purificação de anticorpos IgG que reconhecem a porção C-terminal da proteína 1 da superfície de merozoítas de *Plasmodium vivax* para analisar a atividade biológica dos anticorpos. X Reunião Nacional de Pesquisa em Malária. *Revista Brasileira de Medicina Tropical.* 2007; Vol. 40: Suplemento 11.
29. Sanchez MCA, Ávila SLM, Quartier VP, Ferreira AW. Malaria serology: performance of six *Plasmodium falciparum* antigen extracts and of three ways of determining serum titers in IgG and IgM-ELISA. *Rev Inst Med Trop. Sao Paulo.* 1993; 35: 495-502.
30. Ávila SLM, Tozetto-Mendoza TR, Arruk VG, Ferreira AW. Standardization of procedures of *Plasmodium falciparum* antigen preparation for serologic tests. *Rev Inst Med trop Sao Paulo.* 1998; 40: 309-16.
31. Coelho JS, Soares IR, Lemos EA, Jimenez MCS, Kudó ME, Moraes SL, et al. A multianalyte Dot-ELISA for simultaneous detection of malaria, Chagas disease, and syphilis-specific IgG antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 58: 223-30.
32. Del Portillo HA, Longacre S, Khouri E, David PH. Primary structure of the merozoite surface antigen 1 of *Plasmodium vivax* reveals sequences conserved between different *Plasmodium* species. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991; 88(9): 4030-4.
33. Jeamwattanalert Pimmada, Mahakunkijcharoen Yuvadee, Kittigul Leera, Mahannop Pakpimol, Pichyangkul Sathit, Hirunpetcharat Chakrit. Long-Lasting Protective Immune Response to the 19-Kilodalton Carboxy-Terminal Fragment of *Plasmodium yoelii* Merozoite Surface Protein 1 in Mice. *Clin Vaccine Immunol.* 2007; 14(4):342–7.
34. Pinzon-Charry A, Good MF. Malaria vaccines: the case for a whole-organism approach. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8(4):441-8.

35. Soares IS, Cunha MG, Silva MN, Souza JM, Del Portillo HA, Rodrigues MM. Longevity of the naturally acquired antibody responses to the N-and C-terminal regions of *P. vivax* MSP1. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60:357-63.
36. Kitchen AD, Chiodini PL. Malaria and blood transfusion. *Vox Sanguinis.* 2006; 90:77-84.
37. Kitchen A, Mijovic A, Hewitt P. Transfusional transmitted malaria: current donor selection guidelines are not sufficient. *Vox Sanguinis.* 2005; 88: 200-1.
38. White NJ. Antimalarial drug resistance. *J Clin Invest.* 2004; 113(8):1084–92.
39. RTS,S Clinical Trials Partnership. Efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial. *Lancet.* 2015; 386(9988):31-45.
40. Tran TM, Portugal S, Draper SJ, Crompton PD. Malaria Vaccines: Moving Forward After Encouraging First Steps. *Curr Trop Med Rep.* 2015; 2(1):1–3.
41. Nikolaeva D, Draper SJ, Biswas S. Toward the development of effective transmission-blocking vaccines for malaria. *Expert Rev Vaccines.* 2015 May; 14(5):653-80.
42. World Health Organization. Malaria vaccine rainbow Tables 2015.[cited 2015 nov1] available from http://www.who.int/immunization/research/development/Rainbow_tables/en/
43. Gilson PR, Nebl T, Vukcevic D, Moritz RL, Sargeant T, Speed TP, et al. Identification and stoichiometry of glycosylphosphatidylinositol-anchored membrane proteins of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Mol Cell Proteom.* 2006; 5:1286–1299.
44. Blackman MJ. Proteases involved in erythrocyte invasion by the malaria parasite: function and potential as chemotherapeutic targets. *Curr Drug Targets.* 2000; 1:59-83.
45. McBride JS, Heidrich HG. Fragments of the polymorphic Mr 185,000 glycoprotein from the surface of isolated *Plasmodium falciparum* merozoites form an antigenic complex. *Mol Biochem Parasitol.* 1987; 23: 71–84.
46. Blackman MJ, Heidrich HG, Donachie S, McBride JS, Holder AA. A single fragment of a malaria merozoite surface protein remains on the parasite during red cell invasion and is the target of invasion-inhibiting antibodies. *J Exp Med.* 1990; 172:379-82.

47. Versiani F, Almeida M, Mariuba L, Orlandi P, Nogueira P. N-terminal *Plasmodium vivax* merozoite surface protein-1, a potential subunit for malaria vivax vaccine. *Clinical & Developmental immunology*. 2013; 2013: 965841.
48. Cavanagh DR, McBride JS. Antigenicity of recombinant proteins derived from *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1. *Mol Biochem Parasitol*. 1997; 85:197–211.
49. Szarfman A, Walliker D, McBride JS, Lyon JA, Quakyi IA, Carter R. Allelic forms of gp195, a major blood-stage antigen of *Plasmodium falciparum*, are expressed in liver stages. *J Exp Med*. 1988; 167(1):231-6.
50. Krzych U, Lyon JA, Jareed T, Schneider I, Hollingdale MR, Gordon DM, et al. T-lymphocytes from volunteers immunised with irradiated *Plasmodium falciparum* sporozoites recognise liver and blood-stage malaria antigens. *J Immunol*. 1995; 155(8):4072-7.
51. Sachdeva S, Ahmad G, Malhotra P, Mukherjee P, Chauhan VS. Comparison of immunogenicities of recombinant *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 19- and 42-kilo Dalton fragments expressed in *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2004; 72:5775–82.
52. Fernandez-Becerra C, Sanz S, Brucet M, Stanisic DI, Alves FP, Camargo EP, et al. Naturally-acquired humoral immune responses against the N- and C-termini of the *Plasmodium vivax* MSP1 protein in endemic regions of Brazil and Papua New Guinea using a multiplex assay. *Malar J*. 2010; 9:29.
53. Uthaipibull C, Aufiero B, Syed SE, Hansen B, Guevara Patiño JA, Angov E, et al. Inhibitory and blocking monoclonal antibody epitopes on merozoite surface protein 1 of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J Mol Biol*. 2001; 307(5):1381-94.
54. Mehrizi AA, Zakeri S, Rafati S, Salmanian AH, Djadid ND. Immune responses elicited by co-immunization of *Plasmodium vivax* and *P. falciparum* MSP-1 using prime-boost immunization strategies. *Parasite Immunol*. 2011; 33(11): 594–608.
55. Collins WE, Kaslow DC, Sullivan JS, Morris CL, Galland GG, Yang C, et al. Testing the efficacy of a recombinant merozoite surface protein (MSP-1(19) of *Plasmodium vivax* in *Saimiri boliviensis* monkeys. *Am J Trop Med Hyg*. 1999; 60(3):350-6.
56. Yang C, Collins WE, Sullivan JS, Kaslow DC, Xiao L, Lal AA. Partial protection against *Plasmodium vivax* blood-stage infection in *Saimiri monkeys* by immunization with a recombinant C-terminal fragment of merozoite surface protein 1 in block copolymer adjuvant. *Infect Immun*. 1999; 67(1):342-9.

57. Singh S, Miura K, Zhou H, Muratova O, Keegan B, Miles A, et al. Immunity to recombinant *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 (MSP1): protection in *Aotus nancymai* monkeys strongly correlates with anti-MSP1 antibody titer and in vitro parasite-inhibitory activity. *Infect Immun*. 2006; 74: 4573–80.
58. Birkenmeyer L, Muerhoff AS, Dawson GJ, Desai SM. Isolation and characterization of the MSP1 genes from *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. *Am J Trop Med Hyg*. 2010; 82:996–1003.
59. Fandeur T, Volney B, Peneau C, de Thoisy B. Monkeys of the rainforest in French Guiana are natural reservoirs for *P. brasilianum*/*P. malariae* malaria. *Parasitology*. 2000; 120:11-21.
60. Araújo MS, Messias MR, Figueiró MR, Gil LH, Probst CM, Vidal NM, et al. Natural *Plasmodium* infection in monkeys in the state of Rondônia (Brazilian Western Amazon). *Malar J*. 2013; 12:180.
61. Guimarães LO, Wunderlich G, Alves JMP, Bueno MG, Röhe F, Catão-Dias JL, et al. Merozoite surface protein-1 genetic diversity in *Plasmodium malariae* and *Plasmodium brasilianum* from Brazil. *BMC Infect Dis*. 2015; 15:529.
62. Rutledge GG, Boehme U, Sanders M, Reid AJ, Maiga-Ascofare O, Djimde AA, et al. Elusive *Plasmodium* Species Complete the Human Malaria Genome Set. *BioRxiv*. 2016; 2016:052696.
63. Cheong FW, Lau YL, Fong MY, et al. Evaluation of recombinant *Plasmodium knowlesi* Merozoite Surface Protein-133 for detection of human malaria. *Am J Trop Med Hyg*. 2013; 88(5):835-40.
64. Muerhoff AS, Birkenmeyer LG, Coffey R, Dille BJ, Barnwell JW, Collins WE, et al. Detection of *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, and *P. malariae* merozoite surface protein 1-p19 antibodies in human malaria patients and experimentally infected nonhuman primates. *Clin Vaccine Immunol*. 2010; 17:1631-8.
65. Soares IS, Levitus G, Souza JM, Del Portillo HA, Rodrigues MM. Acquired immune responses to the N- and C-terminal regions of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 in individuals exposed to malaria. *Infect Immun*. 1997; 65:1606-14.
66. Sachdeva S, Mohammed A, Dasaradhi PV, Crabb BS, Katyal A, Malhotra P, et al. Immunogenicity and protective efficacy of *Escherichia coli* expressed *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1(42) using human compatible adjuvants. *Vaccine*. 2006; 24:2007– 16.
67. Ockenhouse CF, Angov E, Kester KE, Diggs C, Soisson L, Cummings JF, et al. Phase I safety and immunogenicity trial of FMP1/AS02A, a *Plasmodium*

- falciparum* MSP-1 asexual blood stage vaccine. *Vaccine*. 2006; 24(15):3009-17.
68. Ogutu BR, Apollo OJ, McKinney D, Okoth W, Siangla J, Dubovsky F, et al. Blood stage malaria vaccine eliciting high antigen-specific antibody concentrations confers no protection to young children in Western Kenya. *PLoS One*. 2009; 4(3):e4708.
 69. Jiang GF, Daubenberger C, Huber W, Matile H, Tanner M, Pluschke G. Sequence diversity of the merozoite surface protein 1 of *Plasmodium falciparum* in clinical isolates from the Kilombero District, Tanzania. *Acta Tropica*. 2000; 74: 51-61.
 70. Miller LH, Roberts T, Shahabuddin M, McCutchan TF. Analysis of sequence diversity in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 (MSP-1). *Mol Biochem Parasitol*. 1993; 59(1):1-14.
 71. Conway DJ, Cavanagh DR, Tanabe K, Roper C, Mikes ZS, et al. A principal target of human immunity to malaria identified by molecular population genetic and immunological analyses. *Nat Med*. 2000; 6: 689–92.
 72. Polley SD, Tetteh KK, Cavanagh DR, Pearce RJ, Lloyd JM, Bojang KA, et al. Repeat sequences in block 2 of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 are targets of antibodies associated with protection from malaria. *Infect Immun*. 2003; 71: 1833-42.
 73. Cavanagh DR, Dodoo D, Hviid L, Kurtzhals JA, Theander TG, Akanmori BD, et al. Antibodies to the N-terminal block 2 of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 are associated with protection against clinical malaria. *Infect Immun*. 2004; 72: 6492–502.
 74. Mawili-Mboumba DP, Borrmann S, Cavanagh DR, McBride JS, Matsiegui PB, Missinou MA, et al. Antibody Responses to *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-1 and Efficacy of Amodiaquine in Gabonese Children with *P. falciparum* Malaria. *J Infect Dis*. 2003; 187: 1137-41.
 75. Cowan GJ, Creasey AM, Dhanasarnsombut K, Thomas AW, Remarque EJ, Cavanagh DR. A malaria vaccine based on the polymorphic block 2 region of MSP-1 that elicits a broad serotype-spanning immune response. *PLoS One*. 2011;6(10):e26616.
 76. Cavanagh DR, Kocken CH, White JH, Cowan GJ, Samuel K, Dubbeld MA, et al. Antibody responses to a novel *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein vaccine correlate with protection against experimental malaria infection in *Aotus monkeys*. *PLoS One*. 2014 Jan 8;9(1):e83704.

77. Rosa DS, Iwai LK, Tzelepis F, Bargieri DY, Medeiros MA, Soares IS, et al. Immunogenicity of a recombinant protein containing the *Plasmodium vivax* vaccine candidate MSP1(19) and two human CD4⁺ T-cell epitopes administered to non-human primates (*Callithrix jacchus jacchus*). *Microbes Infect* 2006; 8:2130–7.
78. Devi YS, Mukherjee P, Yazdani SS, Shakri AR, Mazumdar S, Pandey S. Immunogenicity of *Plasmodium vivax* combination subunit vaccine formulated with human compatible adjuvants in mice. *Vaccine* 2007; 25:5166–74.
79. Amanfo SA, Mduluzi T, Midzi N, Cavanagh DR, Mutapi F. Seroepidemiology of *Plasmodium* species infections in Zimbabwean population. *Malar J.* 2016; 15(1):267.
80. Del Portillo HA, Levitus G, Camargo LM, Ferreira MU, Mertens F. Human IgG responses against the N-terminal region of the Merozoite Surface Protein 1 of *Plasmodium vivax*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1992; 87 Suppl. 3:77-84.
81. Nogueira PA, Alves FP, Fernandez-Becerra C, Pein O, Santos NR, Pereira da Silva LH, et al. A reduced risk of infection with *Plasmodium vivax* and clinical protection against malaria are associated with antibodies against the N terminus but not the C terminus of merozoite surface protein 1. *Infect Immun.* 2006; 74:2726-33.
82. Curado I, Dos Santos Malafronte R, de Castro Duarte AM, Kirchgatter K, Branquinho MS, Bianchi Galati EA. Malaria epidemiology in low-endemicity areas of the Atlantic Forest in the Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. *Acta Trop.* 2006; 100(1-2):54-62.
83. Tanabe K, Mackay M, Goman M, Scaife JG. Allelic dimorphism in a surface antigen gene of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J Mol Biol.* 1987 May 20; 195(2):273-87.
84. Boyle J.S, Lew A.M. An inexpensive alternative to gassmilk for DNA purification. *Trends Gen.* 1995; 11(1):8.
85. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 2nd. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press; 1989.
86. Sambrook J. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 3rd ed. CSHL Press; 1991.
87. Zor T, Selinger Z. Linearization of the Bradford protein assay increases its sensitivity: theoretical and experimental studies. *Anal Biochem.* 1996; 236(2):302-8.

88. Macdonald RA, Hosking CS, Jones CL. The measurement of relative antibody affinity by ELISA using thiocyanate elution. *J Immunol Methods*. 1988 Feb10;106(2):191-4.
89. de Oliveira CI, Wunderlich G, Levitus G, Soares IS, Rodrigues MM, Tsuji M, et al. Antigenic properties of the merozoite surface protein 1 gene of *Plasmodium vivax*. *Vaccine*. 1999; 17(23-24):2959-68.
90. Medeiros MM, Fotoran WL, dalla Martha RC, Katsuragawa TH, Pereira da Silva LH, Wunderlich G. Natural antibody response to *Plasmodium falciparum* merozoite antigens MSP5, MSP9 and EBA175 is associated to clinical protection in the Brazilian Amazon. *BMC Infect Dis*. 2013; 13:608.
91. Epp C, Kauth CW, Bujard H, Lutz R. Expression and purification of *Plasmodium falciparum* MSP-1(42): A malaria vaccine candidate. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2003; 786:61– 72.
92. Singh S, Kennedy MC, Long CA, Saul AJ, Miller LH, Stowers AW. Biochemical and immunological characterization of bacterially expressed and refolded *Plasmodium falciparum* 42-kilodalton C-terminal merozoite surface protein 1. *Infect Immun*. 2003; 71:6766–74.
93. Zhou FX, Cocco MJ, Russ WP, Brunger AT, Engelman DM. Interhelical hydrogen bonding drives strong interactions in membrane proteins. *Nat Struct Biol*. 2000; 7:154–60.
94. Therien A, Grant FEM, Deber CM. Interhelical hydrogen bonds in the CFTR membrane domain. *Nat Struct Biol*. 2001; 8:597–601.
95. Daly TM, Long CA. Humoral response to a carboxyl-terminal region of the merozoite surface protein-1 plays a predominant role in controlling blood-stage infection in rodent malaria. *J Immunol*. 1995; 155: 236–43.
96. Lim KJ, Park JW, Yeom JS, Lee YH, Yoo SB, Oh JH, et al. Humoral responses against the C-terminal region of merozoite surface protein 1 can be remembered for more than 30 years in persons exposed to *Plasmodium vivax*. *Parasitol Res*. 2004; 92:384–389.
97. Marsh K, Otoo L, Hayes RJ, Carson DC, Greenwood BM. Antibodies to blood stage antigens of *Plasmodium falciparum* in rural Gambians and their relations to protection against infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1989; 83:293–303.
98. Ndungu FM, Bull PC, Ross A, Lowe BS, Kabiru E, Marsh K. Naturally acquired immunoglobulin (Ig)G subclass antibodies to crude asexual *Plasmodium falciparum* lysates: evidence for association with protection for IgG1 and disease for IgG2. *Parasite Immunol*. 2002; 24:77–82.

99. Dutta S, Ware LA, Barbosa A, Ockenhouse CF, Lanar DE. Purification, characterization, and immunogenicity of a disulfide cross-linked *Plasmodium vivax* vaccine candidate antigen, merozoite surface protein 1, expressed in *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2001; 69: 5464–70.
100. Li G, Basagoudanavar SH, Gowda DC. Effect of GPI anchor moiety on the immunogenicity of DNA plasmids encoding the 19-kDa C-terminal portion of *Plasmodium falciparum* MSP-1. *Parasite Immunol*. 2008; 30: 315–322.
101. Hui GS, Hashimoto CN. Adjuvant formulations possess differing efficacy in the potentiating of antibody and cell mediated responses to a human malaria vaccine under selective immune genes knockout environment. *Int Immunopharmacol*. 2008; 8: 1012–22.
102. White WI, Evans CB, Taylor DW. Antimalarial antibodies to immunoglobulin G2a isotype modulate parasitemias in mice infected with *Plasmodium yoelii*. *Infect Immun*. 1991; 59:3547–54.
103. Matsumoto S, Yukitake H, Kanbara H, Yamada H, Kitamura A, Yamada T. *Mycobacterium bovis* bacillus calmette-guérin induces protective immunity against infection by *Plasmodium yoelii* at blood stage depending on shifting immunity toward TH1 type and inducing protective IgG2a after the parasite infection. *Vaccine*. 2001; 19:779 – 87.
104. Ahlborg N, Ling IT, Holder AA, Riley EM. Linkage of exogenous T-cell epitopes to the 19-kilodalton region of *Plasmodium yoelli* merozoite surface protein 1 (MSP1-19) can enhance protective immunity against malaria and modulate the immunoglobulin subclass response to MSP119. *Infect Immun*. 2000; 68: 2102–9.
105. Near KA, Stowers AW, Jankovic D, Kaslow DC. Improved immunogenicity and efficacy of the recombinant 19-kilodalton merozoite surface protein 1 by the addition of oligodeoxynucleotide and aluminum hydroxide gel in a murine malaria vaccine model. *Infect Immun*. 2002; 70: 692–701.
106. Hirunpetcharat C, Wipasa J, Sakkhachornphop S, Nitkumhan T, Zheng YZ, Pichyangkul S, et al. CpG oligodeoxynucleotide enhances immunity against blood-stage malaria infection in mice parentally immunized with a yeast-expressed 19 kDa carboxyl-terminal fragment of *Plasmodium yoelii* merozoite surface protein 1 (MSP119) formulated in oil-based Montanides. *Vaccine*. 2003; 21: 2923–32.
107. Kumar S, Jones TR, Oakley MS, Zheng H, Kuppusamy SP, Taye A, et al. CpG oligodeoxynucleotide and montanide ISA 51 adjuvant combination enhanced the protective efficacy of a subunit malaria vaccine. *Infect Immun*. 2004; 72: 949–57.

108. Linke A, Kuhn R, Muller W, Honarvar N, Li C, Langhorne J: *Plasmodium chabaudi*: differential susceptibility of gene-targeted mice deficient in IL-10 to an erythrocytic-stage infection. *Exp Parasitol*. 1996; 84:253–63.
109. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev*. 2003; 8:223–46.
110. Hirunpetcharat C, Tian JH, Kaslow DC, van Rooijen N, Kumar S, Berzofsky JA, et al. Complete protective immunity induced in mice by immunization with the 19-kilodalton carboxyl-terminal fragment of the merozoite surface protein-1 (MSP119) of *Plasmodium yoelii* expressed in *Saccharomyces cerevisiae*: correlation of protection with antigen-specific antibody titer, but not with effector CD4⁺ T cells. *J Immunol*. 1997; 159: 3400–11.
111. Miller LH, Hoffman SL. Research toward vaccines against malaria. *Nat Med*. 1998; 4: 520–4.
112. Smith NC, Fell A, Good MF. The immune response to asexual blood stages of malaria parasites. *Chem Immunol*. 1998; 70: 144–62.
113. Steward MW, Steensgaard J. Antibody Affinity: Thermodynamic Aspects and Biological Significance. Boca Raton: CRC Press; 1983.
114. Rosa DS, Tzelepis F, Cunha MG, Soares IS, Rodrigues MM. The pan HLA DR-binding epitope improves adjuvant-assisted immunization with a recombinant protein containing a malaria vaccine candidate. *Immunol Lett*. 2004 Apr 15; 92(3):259-68.
115. Bargieri DY, Rosa DS, Lasaro MA, Ferreira LC, Soares IS, Rodrigues MM. Adjuvant requirement for successful immunization with recombinant derivatives of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein-1 delivered via the intranasal route. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Jun; 102(3):313-7.
116. Levitus G, Mertens F, Speranca MA, Camargo LM, Ferreira M, del Portillo HA. Characterization of naturally acquired human IgG responses against the N-terminal region of the merozoite surface protein 1 of *Plasmodium vivax*. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51:68-76.
117. Egan AF, Morris J, Barnish G, Allen S, Greenwood BM, Kaslow DC, et al. Clinical immunity to *Plasmodium falciparum* malaria is associated with serum antibodies to the 19-kDa C-terminal fragment of the merozoite surface antigen, PfMSP-1. *J Infect Dis* 1996; 173:765–9.
118. McMorro ML, Aidoo M, Kachur SP. Malaria rapid diagnostic tests in elimination settings--can they find the last parasite? *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17(11):1624-31.

119. Maltha J, Gillet P, Jacobs J. Malaria rapid diagnostic tests in endemic settings. *Clin Microbiol Infect.* 2013; 5:399-407.
120. Kosack CS, Naing WT, Piriou E, Shanks L. Routine parallel diagnosis of malaria using microscopy and the malaria rapid diagnostic test SD 05FK60: the experience of Médecins Sans Frontières in Myanmar. *Malar J.* 2013; 12:167.
121. Grobusch MP, Hänscheid T, Zoller T, Jelinek T, Burchard GD. Rapid immunochromatographic malarial antigen detection unreliable for detecting *Plasmodium malariae* and *Plasmodium ovale*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002; 11:818-20.
122. Tanizaki R, Kato Y, Iwagami M, Kutsuna S, Ujiie M, Takeshita N, et al. Performance of Rapid Diagnostic Tests for *Plasmodium ovale* Malaria in Japanese Travellers. *Trop Med Health.* 2014; 42(4):149-53.
123. Cho SJ, Lee J, Lee HJ, Jo HY, Sinniah M, Kim HY, et al. A Novel Malaria Pf/Pv Ab Rapid Diagnostic Test Using a Differential Diagnostic Marker Identified by Network Biology. *Int J Biol Sci.* 2016; 12(7):824-35.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470
CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil - e-mail: cpq-imt@usp.br
Telefones: (55) 11-3061-8650, FAX (55) 11-3064-5132

São Paulo, 09 de Fevereiro de 2015

Ilmo(a)

Dr(a). Karin Kirchgatter

(aos cuidados de Yelina Brito)

Em reunião na presente data, a Comissão de Pesquisa e Ética e Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa, do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, analisou e **APROVOU**, no que diz respeito aos aspectos de natureza da ética em experimentação animal, o projeto de pesquisa classificado sob número **CPE-IMT/000304A 'Caracterização da imunogenicidade de proteínas recombinantes da Proteína de Superfície do Merozoíto 1 de Plasmodium malariae e Plasmodium brasilianum (PmMSP1 e PbMSP1) em modelo Mus musculus'**, sob a sua responsabilidade.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CEUA-IMT, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais – Lei n 11.794, 8 de outubro de 2008).

As seguintes espécies serão utilizadas no projeto:

Camundongo isogênico (36 animais).

Atenciosamente,

Dr. Expedito José de Albuquerque Luna
Presidente da Comissão de Pesquisa e Ética do IMT-USP

Dra. Luciana Regina Meireles Jaguaribe Ekman
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa do IMT-USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (011) 3091.7733 - telefax : (55) (011) 3091 7438
e-mail: cep@icb.usp.br

Of.CEPSH. 020/2015

São Paulo, 19 de março de 2015.

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. Gehard Wunderlich
Departamento de Parasitologia -ICB/USP

Prezado Senhor,

A Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, em reunião realizado em 18.03.2015, após análise do pedido de cadastramento do biorrepositório formado por "Amostras de Plasma" coletadas nos Projetos de pesquisa Aprovados com os PARECER 742/2006/CEP, PARECER Nº741/2006, PARECER 196/2001 e PARECER 318/2002, decidiu por **aprová-lo**.

Informo que qualquer alteração na composição do biorepositório (tanto por inclusão de novas amostras ou exclusão de amostras) deve ser informada a esta Comissão para atualização do cadastro.

Atenciosamente,

Prof. Dr. PAULO A. M. ZANOTTO
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB /USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Antigenicidade da Proteína de Superfície do Merozoíto 1 de Plasmodium malariae e Plasmodium brasilianum (PmMSP1 e PbMSP1) em infecções naturais de humanos e primatas não humanos

Pesquisador: Karin Kirchgatter

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 35774814.8.0000.5467

Instituição Proponente: SUPERINTENDENCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS SUCEN

Patrocinador Principal: SUPERINTENDENCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS SUCEN

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.003.485

Data da Relatoria: 15/04/2015

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: Antigenicidade da Proteína de Superfície do Merozoíto 1 de Plasmodium malariae e Plasmodium brasilianum (PmMSP1 e PbMSP1) em infecções naturais de humanos e primatas não humanos

Pesquisador: Karin Kirchgatter

Instituição Proponente: SUPERINTENDENCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS SUCEN

Objetivo da Pesquisa:

Atendimento a pendência

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem alteração em razão da pendência

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foi feita a pendência solicitando-se a identificação do biorepositório do qual as amostras serão utilizadas. Em razão desta pendência o Pesquisador responsável solicitou cadastramento do respectivo biorepositório que foi aprovado por esse CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não pertinente

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7733

Fax: (11)3091-8405

E-mail: cep@icb.usp.br

Continuação do Parecer: 1.003.485

Recomendações:

Sem recomendação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendência

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais e final), de acordo com a Resolução nº 466/12, item II, II.19 e II.20, do Conselho Nacional de Saúde.

Ao pesquisador cabe também finalizar o processo junto à Plataforma Brasil quando do encerramento deste.

SAO PAULO, 28 de Março de 2015

Assinado por:
Regina Scivoletto
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-000

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7733

Fax: (11)3091-8405

E-mail: cep@icb.usp.br