



CENTRO UNIVERSITÁRIO FUNVIC



Credenciado pela portaria n°. 1.270, de 04/07/2019, D.O.U. n° 128, seção 1, pág. 59, de 05/07/2019

**RAFAELA DOS SANTOS SILVA
THAMIRES SANTOS SILVA
UELDER DE LIMA TEIXEIRA DA SILVA**

**BIOENSAIO TOXICOLÓGICO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO
CONVENCIONAIS- PANC'S EM *Artemia salina* LEACH:**

PINDAMONHANGABA - SP

2021

RAFAELA DOS SANTOS SILVA
THAMIRES SANTOS SILVA
UELDER DE LIMA TEIXEIRA DA SILVA

**BIOENSAIO TOXICOLÓGICO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO
CONVENCIONAIS- PANC'S EM *Artemia salina* LEACH:**

Monografia apresentada como parte dos requisitos para
obtenção de diploma de bacharel, pelo Curso de farmácia
do Centro Universitário UniFUNVIC

Orientador: Prof. Dr. Matheus Diniz Gonçalves Coêlho

PINDAMONHANGABA – SP

2021

Silva, Rafaela dos Santos; Silva, Thamires Santos; Silva, Uelder de Lima Teixeira.

Bioensaio toxicológico de plantas alimentícias não convencionais – PANC's em *Artemia salina* Leach / Rafaela dos Santos Silva; Thamires Santos Silva; Uelder de Lima Teixeira da Silva / Pindamonhangaba – SP : UniFUNVIC Centro Universitário FUNVIC, 2021.
27f.: il.

Monografia (Graduação em Farmácia) UniFUNVIC – SP.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Diniz Gonçalves Coelho.

1 Toxicidade. 2 Plantas comestíveis. 3 *Artemia salina*

I Bioensaio toxicológico de plantas alimentícias não convencionais – PANC's em *Artemia Salina* Leach II Rafaela dos Santos Silva; Thamires Santos Silva; Uelder de Lima Teixeira da Silva.

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a nossas famílias, que tanto admiramos e nos espelhamos. A vocês que sempre se dedicaram a nossa felicidade e progresso, e nunca mediram esforços para que alcançássemos nossos objetivos e realizássemos nossos sonhos! A vocês, nada menos do que o nosso muito obrigado, por todo carinho e exemplo!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaríamos de agradecer a Deus, por permitir que nossos objetivos fossem alcançados e por nos permitir ultrapassar os obstáculos durante esses quatro anos. Aos nossos pais e irmãos que nos apoiaram incondicionalmente, por serem compreensivos nas fases difíceis, por nos incentivar a todo momento e compreenderem nossa determinação e dedicação para com os estudos e projeto. Ao nosso orientador, professor e coordenador, que nos incentivou e nos ajudou em todo o trajeto, que esteve do nosso lado, apesar das incertezas e experimentos que não surtiram resultado. Aos demais que participaram direta e/ou indiretamente no desenvolvimento do projeto e em todo o processo de aprendizagem e absolutamente tiveram impacto em nossa formação acadêmica.

“O maior erro que um homem pode cometer é sacrificar a sua saúde a qualquer outra vantagem”

(Arthur Schopenhauer)

O presente trabalho foi escrito para ser submetido a revista Ciências e Saúde on-line, cujas normas seguem em anexo.

BIOENSAIO TOXICOLÓGICO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS- PANC'S EM *Artemia salina* LEACH

TOXICOLOGICAL BIOASSAY OF UNCONVENTIONAL FOOD PLANTS - PANCS IN

Artemia salina LEACH

Resumo

O uso de plantas alimentícias não convencionais (PANCs) tem crescido nos últimos anos, sendo estas muitas vezes consideradas daninhas, pelo fato de crescerem espontaneamente, independente do local, porém apresentando valor nutricional semelhante a muitas hortaliças e frutas já conhecidas. Apesar deste potencial, o ainda incipiente conhecimento acerca de algumas espécies de PANCs traz à tona a necessidade de melhor definir os riscos decorrentes do seu consumo. No presente trabalho objetivou-se verificar a toxicidade de decoctos de *Amaranthus viridis* (caruru), *Chenopodium ambrosioides* (mastruz), *Xanthosoma sagittifolium* (taioba), por meio de teste in vitro em *Artemia salina*. Observou-se 100% de mortalidade dos náuplios de *A. salina*, permitindo inferir que os decoctos avaliados possuem elevado potencial para causar intoxicação, sendo necessário melhor definir métodos de preparo adequado destas, de forma a permitir um consumo seguro.

Palavras-chave: Toxicidade. Plantas comestíveis. *Artemia salina*

Abstract

The use of unconventional food plants (PANCs) has grown recently, and they are often considered weeds, as they grow spontaneously, regardless of location, but presenting nutritional value similar to many already known vegetables and fruits. Despite this potential, the still incipient knowledge about some species of PANCs brings out the need to better define the risks arising from their consumption. This work verified the toxicity of decoctions of *Amaranthus viridis* (caruru), *Chenopodium ambrosioides* (mastruz), *Xanthosoma sagittifolium* (taioba), through a susceptibility test with the microcrustacean *Artemia salina*. A 100% mortality rate of *A. salina* nauplii was observed, allowing the inference that the evaluated decoctions have a high potential to cause intoxication, and it is necessary to better define adequate methods of preparation of these, in order to allow safe consumption.

Keywords: Toxicity. Edible plants. brine shrimp

Introdução

A preocupação com a alimentação saudável tem crescido nas sociedades modernas, onde alimentos funcionais quando acrescentados a uma dieta convencional mostram-se benéficos ao homem.¹ Neste sentido, a utilização de plantas para alimentação e terapêutica tem apresentado significativo crescimento, particularmente no Brasil, país que possui grande biodiversidade, sendo este fator um estímulo natural para adesão a tal prática.²

A obtenção de alimentos provenientes de recursos naturais é praticada desde os primórdios da humanidade, e os vegetais são contribuintes majoritários, entretanto, para se

alicerçar esta prática, foi necessário saber distinguir sua utilização e também saber diferenciar o que era ou não prejudicial à saúde.³

Devido ao crescimento populacional, o aumento no consumo e renda per capita atrelado à expansão de cidades traz a tona uma potencial incapacidade de se suprir as necessidades humanas. De outra forma, muitas famílias padecem com a pobreza e com a dificuldade de acesso a alimentos, já que uma em cada nove pessoas no mundo não tem o suficiente para se alimentar e levar uma vida saudável, maximizando assim a aplicabilidade do consumo de plantas alimentícias não convencionais (PANCs), sem, entretanto, deixar de levar em consideração a segurança quando da adesão a tal prática alimentícia.⁴

Apesar do conhecimento milenar acerca do consumo seguro de vegetais, com o aumento do consumo de plantas alimentícias não convencionais (PANCs) na atualidade torna-se importante avaliar não só o potencial de uso destas como alimentos, como também verificar seu potencial tóxico, de forma que o consumo seja realizado respeitando-se suas características e formas de preparo, para que os efeitos esperados sejam obtidos com segurança.³

A Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) evolui constantemente junto com a evolução humana e seus interesses e relações sociais. Para poder alcançar essa segurança, é necessária a melhoria de condições socioeconômicas e qualidade de vida, porém a Insegurança Alimentar e Nutricional (IAN) é relacionada a situações como fome, desnutrição, situações oriundas de doenças associadas à desnutrição, excesso de peso, entre outras carências. Pode-se associar a insegurança alimentar a indicadores nutricionais e socioeconômicos, baixa escolaridade e índice de pobreza, fatores estes que contribuem para a falta de acesso a alimentação.⁵

A fim de diminuir este problema, tem-se direcionado a atenção para muitas plantas que são consideradas de forma pejorativa como “ervas daninhas”, e isso acontece por nascerem em locais inadequados ou indesejados, onde muitas das vezes são suprimidas de seu crescimento ou erradicadas. Contudo, muitas espécies que nascem espontaneamente, são de grande importância cultural, ecológica e econômica, podendo ser úteis na alimentação. As PANCs podem ter uma ou mais partes utilizadas para alimentação, como: raízes, folhas, flores, sementes, entre outras partes. Exemplos de PANCs são caruru (*Amaranthus viridis* L.), mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.), major gomes / maria gorda (*Talinum paniculatum* Jacq.),

taioaba (*Xanthosoma sagittifolium* Schott), língua de vaca (*Rumex crispus* L.), dente-de-leão (*Taraxacum officinale* Weber), entre muitas outras.⁶

Algumas PANCs têm seus teores nutricionais iguais ou maiores aos de hortaliças, raízes e frutos utilizados normalmente na alimentação dos brasileiros. Porém o desconhecimento dos valores nutricionais e formas de uso acrescentados a tendências comportamentais na alimentação humana implicam na redução ou não utilização de muitas plantas usadas por gerações anteriores.⁶

Por outro lado, ainda são pouco conhecidas as formas mais seguras de consumo de diversas PANCs, o que representa um risco, já que os mecanismos de proteção das plantas podem causar mudanças no metabolismo e culminar na produção de componentes potencialmente tóxicos, os quais podem implicar em intoxicação para homens ou animais.⁷

Sendo as PANCs menos conhecidas do que as plantas tradicionais, determinadas espécies podem ser potencialmente tóxicas, podendo vir a causar alterações patológicas e até levar ao óbito se não forem corretamente preparadas e consumidas. Sendo assim, torna-se importante avaliar a toxicidade das PANCs, seja para fins terapêuticos ou nutricionais, a fim de proporcionar melhor qualidade de vida a sociedade⁷, podendo-se para tanto, lançar mão de testes de toxicidade in vitro, a exemplo do teste com náuplios de *Artemia salina*, para avaliar a sua segurança de uso.

O teste de mortalidade com *A. salina* é de grande aplicabilidade, sendo utilizado em todo o mundo como bioindicador de toxicidade, haja vista sua reprodutibilidade, fácil aquisição no mercado e fácil incubação dos espécimes⁸ e, sendo assim, no presente trabalho se objetivou avaliar a toxicidade de decoctos de três espécies de PANCS, *Amaranthus viridis* L., *Xanthosoma sagittifolium* Schott e *Chenopodium ambrosioides* L., mediante o teste com *A. salina*.

Método

Inicialmente foi obtido material vegetal de cada planta escolhida. *Chenopodium ambrosioides* L. foi obtido a partir de espécimes cultivadas em uma horta domiciliar, situada no município de Cachoeira Paulista - SP, Brasil. *Amaranthus viridis* foi coletado em uma propriedade urbana no município de Taubaté, SP - Brasil, e *Xanthosoma sagittifolium* foi coletado em uma propriedade no município de Pindamonhangaba, SP - Brasil.

Após coleta dos materiais vegetais, estes foram levados ao Laboratório de Farmacognosia e Plantas Medicinais do centro universitário FUNVIC - UniFUNVIC, onde foram preparadas exsiccatas e efetivada a identificação da botânica pelo Farmacêutico Dr. Gokithi Akisue. Para avaliação da toxicidade foram preparados decoctos das plantas selecionadas, seguindo metodologia descrita por Maciel et al.⁹

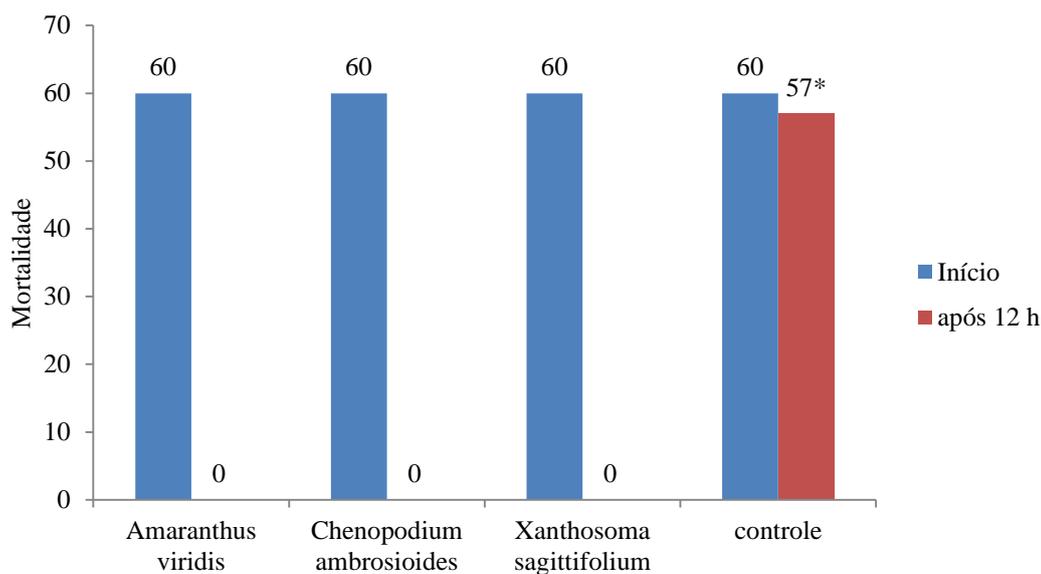
Basicamente, para obter os decoctos utilizados no presente estudo, as partes aéreas de cada planta (folhas, flores e caules) foram processadas, secas em um forno a 45 ° C e pulverizadas em um moinho de café elétrico (Cuisinart®). Ao final deste processo, 100g de cada material vegetal foram pesados e homogeneizados em 1500 mL de água e submetidos a processo de decocção convencional, com interrupção do processo após 15 minutos do início da fervura. Os decoctos obtidos foram posteriormente filtrados após resfriamento à temperatura ambiente e dispensados em tubos de ensaio, para a realização do teste de toxicidade.

Para este teste foram utilizados cistos adquiridos comercialmente, os quais foram submetidos à aeração contendo água salina (23g/L de sal marinho e 0,7g/L de bicarbonato em água destilada, obtendo-se um pH entre 8 e 9, mediante aferição em pHmetro SIMPLA PH140) durante o período de 24 horas, permitindo-se a eclosão dos náuplios. Para cada uma das PANCs avaliadas, foram preparados 6 tubos contendo 10mL do decocto, bem como um tubo adicional, contendo apenas água salina (grupo controle). Em cada um dos tubos foram adicionados 10 náuplios e após 12 horas foi avaliada a mortalidade, sendo utilizado como critério de morte a ausência de movimento natatório espontâneo, ou após exposição a estímulo de luz.

Os resultados de sobrevivência foram avaliados estatisticamente, por meio de determinação de variância (método ANOVA; com significância $p < 0,0001$), para tanto utilizando o software bioestat 5.0, como ferramenta de apoio.

Resultados

A sobrevivência dos náuplios de *Artemia salina* frente às diversas espécies vegetais avaliadas está disponibilizada na figura 1.



* - diferença significativa ($p < 0,0001$)

Figura 1 – Sobrevivência de náuplios de *Artemia salina* após exposição aos decoctos vegetais

Discussão

Tendo como base os resultados obtidos, observou-se que todos os decoctos testados demonstraram-se tóxicos, já que induziram 100% de mortalidade dos náuplios de *A. salina*.

A toxicidade detectada frente a *A. salina* por parte das espécies *X. sagittifolium* e *A. viridis* pode estar relacionada com o fato de que tais espécies apresentam na sua composição elevados teores de ácido oxálico, substância considerada um fator antinutricional, pelo fato de se acumular na forma de cristais de oxalato, os quais podem ser encontrados em quantidades que chegam a até 80% do peso seco das plantas.¹⁰

Os oxalatos quando presentes em elevada quantidade na dieta podem reagir com cálcio sérico, formando oxalato de cálcio, vindo a cristalizar e formar cálculos renais, os quais podem causar obstrução de néfrons, lesão renal e desajuste metabólico, bem como causar lesão celular direta, induzindo apoptose.¹¹ Tais fatores, conjuntamente, implicam em risco para consumo de diversos vegetais sabidamente possuidores de teores elevados de ácido oxálico, estando este risco relacionado com a parte do vegetal a ser consumida, e com a forma de preparo destes para a alimentação.¹²

De acordo com Oliveira, Andrade e Oliveira,¹³ *X. sagittifolium*, espécie originária da América tropical, contém oxalato de cálcio na sua composição, na forma de cristais aciculares

(ráfides) os quais podem penetrar na pele macia, estando tal característica relacionada a sua toxicidade. Ainda segundo os autores, tal espécie vegetal pode ser uma importante fonte de cálcio, sendo o seu consumo considerado uma estratégia viável para manter níveis adequados desse mineral, porém, a quantidade de cálcio livre e a aplicabilidade desse vegetal como suplemento dietético dependem da forma como o mesmo é processado, fator este que também pode influenciar no teor de oxalato, sendo isto também aplicável para outras espécies vegetais ricas em oxalato, à exemplo de *A. viridis*.

No presente trabalho, apesar de não se ter determinado o teor de oxalato presente no decocto obtido a partir das partes aéreas de *X. sagittifolium*, é possível inferir que o procedimento de decocção simples não foi suficiente para diminuir a toxicidade do referido vegetal, uma vez que ocorreu 100% de mortalidade dos náuplios, estando tal resultado de acordo com as evidências obtidas por Iwuoha e Calu,¹⁴ segundo os quais a quantidade de oxalato diminui após cozimento e fervura, mas todo seu efeito deletério só desaparece se o processo de cozimento durar pelo menos uma hora.

A demanda por um período de uma hora de decocção para eliminar a toxicidade de plantas ricas em oxalato de cálcio também foi demonstrada por Hang, Vanhanen e Savage.¹⁵ Tais autores observaram que uma redução média de 62,1% em oxalato solúvel nos pecíolos e folhas de *Colocasia esculenta* foi alcançada após fervura por apenas 10 minutos, porém sendo essa redução mais significativa e, portanto, permitindo o consumo mais seguro, apenas após o período de 60 minutos, já que favoreceu uma redução dos teores de oxalato superior a 80%.

No que concerne à *C. ambrosioides*, sabe-se que esta espécie vegetal é nativa na América Tropical sendo extensivamente utilizada na culinária de alguns países, a exemplo do México¹⁶ e de países da Europa.¹⁷ Entretanto, seu uso popular é mais voltado à prática terapêutica, como infusão ou decocção, para o controle de parasitoses, úlceras e distúrbios digestivos, alívio de dores musculares, lesões nos ossos e estados gripais.¹⁷

No presente trabalho, mediante os resultados obtidos no teste de toxicidade com *A. salina*, pode-se inferir que o decocto de *C. ambrosioides* também apresentou elevado potencial de toxicidade, induzindo a 100% de mortalidade em um curto período de tempo, evidenciando um provável risco de consumo, mesmo que esporadicamente.

De acordo com Sá, Soares e Randau,¹⁷ as práticas de consumo popular de infusos/decoctos de *C. ambrosioides* podem chegar a até sete dias de consumo intermitente,

porém, segundo Pozzatti et al¹⁶ o consumo de tais preparações não pode ocorrer para além de três dias, devendo seu consumo ser particularmente evitado em pacientes com lesão inflamatória renal e intestinal, haja vista as propriedades tóxicas do componente majoritário presente nessa espécie vegetal, à saber, o ascaridol, que pode induzir principalmente danos hepáticos e renais, além de efeito abortivo.

Conclusão

Por meio da avaliação de toxicidade utilizando-se o teste com o microcrustáceo *Artemia salina* foi possível observar que decoctos de *Amaranthus viridis*, *Chenopodium ambrosioides* e *Xanthosoma sagittifolium* são potencialmente tóxicos, já que induziram 100% de mortalidade dos náuplios avaliados no procedimento experimental, permitindo-se inferir que se fazem necessários estudos futuros para determinar formas seguras de preparo de alimentos à base das três espécies de PANC supracitadas.

Referências

1. Pinto VFVJ, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas Mediciniais: Cura Segura? Quim. Nova. 2005;28(3):519-528. DOI: 10.1590/S0100-40422005000300026
2. Lima LO, Gomes EC. Alimento ou medicamento? Espécies vegetais frente à legislação brasileira. Rev.Bras.Pl.Med. 2014;16(3)771-782. DOI: 10.1590/1983-084x/%2012_096
3. Liberato PS, Travasso DV, Silva GMB. PANCs - Plantas Alimentícias não Convencionais e seus benefícios nutricionais. Env Smoke. 2019;2(2):102-111. DOI: 10.32435/envsmoke.201922102-11
4. Saath KCO, Fachinello AL. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. Rev. Econ. Sociol. Rural. 2018;56(2):195-212. DOI: 10.1590/1234-56781806-94790560201.
5. Trivellato PT, Morais DC, Lopes SO, Miguel ES, Franceschini SCC, Priore SE. Insegurança alimentar e nutricional em famílias do meio rural brasileiro: revisão sistemática. Ciênc. Saúde colet. 2017;24(3):865-874. DOI: 10.1590/1413-81232018243.05352017
6. Terra SB, Vieira CTR. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs): Levantamento em zonas de Santana do Livramento, RS. Ambiência. 2019;15(1):112-130. DOI: 105935/ambiência.2019.01.07.
7. Campos SC, Silva CG, Campana PRV, Almeida VL. Toxicidade de espécies vegetais. Rev. Bras. Pl. Med.2016;18(1):373-382. DOI: 10.15990/1983-084X/15_057

8. Coêlho MDG, Maciel LTR, Ozaki TFK, Silva MEG, Bozo LSO, Consoli YA, et al. Ovicidal and toxicological effect of hydroalcoholic extracts of *Euphorbia milli* var. *splendens*, *Synadenium carinatum* Boiss and *Tagetes minuta* L. against *Ancylostoma* spp.: In vitro study. *J Parasit Dis.* 2020;45(1):252-257. DOI: 10.1007/s12639-020-01302-9.
9. Maciel LTR, Pereira-Maciel FBS, Akisue G, Silva-Coêlho FAS, Coêlho MDG. Anticoccidial and toxicological activity of *Asclepias curassavica* L. against *Eimeria bovis* oocysts. *Pubvet.* 2019;3(4):13-8. DOI: 10.31533/pubvet.v13n4a308.1-8.
10. Nguyen HVH, Savage GP. Oxalate content of New Zealand grown and imported fruits. *J Food Compost Anal.* 2013;31:180-184. DOI: 10.1016/j.jfca.2013.06.001
11. Scaranello KL, Alvares VRC, Carneiro DMQ, Barros FHS, Gentil TMS, Thomaz MJ et al. Carambola como causa de lesão renal aguda. *J Bras Nefrol.* 2014;36(2):246-249. DOI: 10.5935/0101-2800.20140019
12. Santos, MAT. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócolis, couve-flor e couve. *Ciênc Agrotec.* 2006;30(2):294-301. DOI: 10.1590/S1413-70542006000200015
13. Oliveira GL, Andrade LHC, Oliveira AFM. *Xanthosoma sagittifolium* and *Laportea aestuans*: Species used to prevent osteoporosis in Brazilian traditional medicines. *Pharmaceut biol.* 2012;50(7):930-932. DOI: 10.3109/13880209.2011.637054
14. Iwuoha CI, Kalu FA. Calcium oxalate and physico-chemical properties of cocoyam (*Colocasia esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium*) tuber flours as affected by processing. *Food Chem.* 1995;54, 61-66. DOI: 10.1016/0308-8146(95)92663-5
15. Hang DT, Vanhanen L, Savage G. Effect of simple processing methods on oxalate content of taro petioles and leaves grown in central Vietnam. *Food Sci and Technol.*2013;50: 259-263. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.05.015
16. Pozzatti PN, Casagrande FP, Valentim TP, Gai ZT, Porfírio LC. Aspectos farmacológicos e terapêuticos da utilização de Erva-de-Santa-Maria (*Chenopodium ambrosioides*) em humanos e animais. *Pubvet.* 2010;4(35). Art.946.
17. Sá RD, Soares LAL, Randau KP. Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2015;36(2):267-276.

ANEXO A – Normas da Revista Ciência e Saúde On-line

Diretrizes para Autores

Os trabalhos devem ser redigidos em português, o uso da forma culta correta é de responsabilidade dos autores. Os nomes dos autores, bem como a filiação institucional de cada um, devem ser inseridos nos campos adequados a serem preenchidos durante a submissão. A Revista Ciência e Saúde on-line sugere que o número máximo de autores por artigo seja 6 (seis). Artigos com número superior a 6 (seis) serão considerados exceções e avaliados pelo Conselho Editorial que poderá solicitar a adequação. Pesquisas feitas com seres humanos e animais devem, obrigatoriamente, citar a aprovação da pesquisa pelo respectivo Comitê de Ética. O não atendimento de tal proposta pode implicar em recusa de sua publicação. Da mesma forma, o plágio implicará na recusa do trabalho.

Os autores dos artigos aceitos poderão solicitar a tradução do artigo para língua inglesa nos tradutores indicados pela revista e reenviar. Os custos com a tradução serão de responsabilidade dos autores.

O periódico disponibilizará aos leitores o conteúdo digital em ambos os idiomas, português e inglês.

APRESENTAÇÃO DO MATERIAL

Sugere-se um número máximo de 20 páginas, incluindo referências, figuras, tabelas e quadros. Os textos devem ser digitados em Fonte Times New Roman, tamanho 12, espaçamento 1,5, justificado, exceto Resumo e Abstract que devem ser em tamanho 11 e ter espaçamento simples. Devem ser colocadas margens de 2 cm em cada lado.

As Figuras: gráficos, imagens, desenhos e esquemas deverão estar inseridas no texto, apresentar boa qualidade, estar em formato JPEG, com resolução de 300dpi com 15cm x 10cm. O número de figuras deve ser apenas o necessário à compreensão do trabalho. Não serão aceitas imagens digitais artificialmente 'aumentadas' em programas computacionais de edição de imagens. As figuras devem ser numeradas em algarismos arábicos segundo a ordem em que aparecem e suas legendas devem estar logo abaixo.

Tabelas e Quadros: deverão ser numerados consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçados pelo título. As tabelas e os quadros devem estar inseridos no texto. Não serão admitidas as tabelas e quadros inseridos como Figuras.

Títulos de tabelas e quadro e legendas de figuras deverão ser escritos em tamanho 11 e com espaço simples entre linhas.

Citação no texto: deve-se seguir o sistema numérico de citações, em que as referências são numeradas na ordem em que aparecem no texto e citadas através dos seus números sobrescritos (depois de ponto e de vírgula; antes de ponto e vírgula e dois pontos). Citações de mais de uma referência devem obedecer ordem numérica crescente. Quando no final da frase, os números das referências devem aparecer depois da pontuação. Citações com numerações consecutivas devem ser separadas por hífen (Ex: 3-6); em caso contrário, deve-se utilizar vírgula (Ex: 3,4,9,14). Toda referência deverá ser citada no texto. Exemplos: Conforme definem Villardi et al.1, a perda óssea alveolar... O uso de implante de carga imediata tem sido discutido por vários autores.1,3,5-8 Não serão aceitas teses, dissertações e monografias como fonte bibliográfica.

Grafia de termos científicos, comerciais, unidades de medida e palavras estrangeiras: os termos científicos devem ser grafados por extenso, em vez de seus correspondentes simbólicos abreviados. Incluem-se nessa categoria os nomes de compostos e elementos químicos e binômios da nomenclatura microbiológica, zoológica e botânica. Os nomes genéricos de produtos devem ser preferidos às suas respectivas marcas comerciais, sempre seguidos, entre parênteses, do nome do fabricante, da cidade e do país em que foi fabricado, separados por

vírgula. Para unidades de medida, deve-se utilizar o Sistema Internacional de Unidades. Palavras em outras línguas devem ser evitadas nos textos em português, utilizar preferentemente a sua tradução. Na impossibilidade, os termos estrangeiros devem ser grafados em itálico. Toda abreviatura ou sigla deve ser escrita por extenso na primeira vez em que aparecer no texto.

ESTRUTURA DO ARTIGO

Independentemente do tipo de artigo, todos deverão ter uma Página de título (que deve ser enviada em arquivo separado do texto do artigo), contendo:

Título em português: caixa alta, centrado, negrito, conciso, com um máximo de 25 palavras;

Título em inglês (obrigatório): caixa alta, centrado. Versão do título em português;

Nomes dos autores, sem abreviação, bem como a titulação e a filiação institucional de cada um. O autor de correspondência deve ser identificado com um asterisco após o sobrenome e deve ser fornecido o e-mail para contato, logo abaixo das afiliações.

PESQUISAS ORIGINAIS devem ter no máximo 20 páginas com até 40 citações; organizar da seguinte forma:

Resumo: não estruturado, parágrafo único sem deslocamento, fonte tamanho 11, espaço 1, justificado, contendo entre 150 e 250 palavras. Deve conter a apresentação concisa de cada parte do trabalho, abordando objetivo(s), método, resultados e conclusões. Deve ser escrito sequencialmente, sem subdivisões. Não deve conter símbolos e contrações que não sejam de uso corrente nem fórmulas, equações, diagramas;

Palavras-chave: de 3 a 5 palavras-chave, iniciadas por letra maiúscula, separadas e finalizadas por ponto. Deverá ser consultada a lista de Descritores em Ciências da Saúde-DECS, que pode ser encontrada no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br/>

Abstract (obrigatório): fonte tamanho 11, espaço 1, justificado, deve ser a tradução literal do resumo;

Keywords: palavras-chave em inglês;

Introdução: deve apresentar o assunto a ser tratado, fornecer ao leitor os antecedentes que justificam o trabalho, incluir informações sobre a natureza e importância do problema, sua relação com outros estudos sobre o mesmo assunto, suas limitações. Essa seção deve representar a essência do pensamento do pesquisador em relação ao assunto estudado e apresentar o que existe de mais significativo na literatura científica. Os objetivos da pesquisa devem figurar como o último parágrafo desse item.

Método: destina-se a expor os meios dos quais o autor se valeu para a execução do trabalho. Pode ser redigido em corpo único ou dividido em subseções. Especificar tipo e origem de produtos e equipamentos utilizados. Citar as fontes que serviram como referência para o método escolhido.

Pesquisas feitas com seres humanos e animais devem, obrigatoriamente, citar a aprovação da pesquisa pelo respectivo Comitê de Ética.

Resultados: Nesta seção o autor irá expor o obtido em suas observações. Os resultados poderão estar expressos em quadros, tabelas, figuras (gráficos e imagens). Os dados expressos não devem ser repetidos em mais de um tipo de ilustração.

Discussão: O autor, ao tempo que justifica os meios que usou para a obtenção dos resultados, deve contrastar esses com os constantes da literatura pertinente; estabelecer relações entre causas e efeitos; apontar as generalizações e os princípios básicos, que tenham comprovações nas observações experimentais; esclarecer as exceções, modificações e contradições das hipóteses, teorias e princípios diretamente relacionados com o trabalho realizado; indicar as aplicações teóricas ou práticas dos resultados obtidos, bem como, suas limitações; elaborar, quando possível, uma teoria para explicar certas observações ou resultados obtidos; sugerir, quando for o caso, novas pesquisas, tendo em vista a experiência adquirida no desenvolvimento do trabalho e visando a sua complementação.

Conclusões: Devem ter por base os resultados e expressar com lógica e simplicidade o que foi demonstrado com a pesquisa, não se permitindo deduções. Devem responder à proposição.

Agradecimentos (opcionais): O autor deve agradecer às fontes de fomentos e àqueles que contribuíram efetivamente para a realização do trabalho. Agradecimento a suporte técnico deve ser feito em parágrafo separado.

Referências (e não bibliografia): Espaço simples entre linhas e duplo entre uma referência e a próxima. As referências devem ser numeradas na ordem em que aparecem no texto. A lista completa de referências, no final do artigo, deve estar de acordo com o estilo Vancouver (norma completa <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>; norma resumida http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Quando a obra tiver até seis autores, todos devem ser citados. Mais de seis autores, indicar os seis primeiros, seguido de et al. O endereço eletrônico de acesso ao artigo deverá constar da referência somente quando se tratar de publicação não impressa. O número do Digital Object Identifier (DOI) deve ser informado sempre para os artigos que o possuem. Alguns exemplos:

Artigo publicado em periódico:

Carvalho C, Fernandes WHC, MouttinhoTBF, Souza DM, Marcucci MC, D'Alpino PHP. Evidence-Based Studies and Perspectives of the Use of Brazilian Green and Red Propolis in Dentistry. *Eur J Dent.* 2019;13:453-63. DOI: 10.1055/s-0039-1700598

Artigo publicado em periódico em formato eletrônico:

Gueiros VA, Borges APB, Silva JCP, Duarte TS, Franco KL. Utilização do adesivo Metil-2-Cianoacrilato e fio de náilon na reparação de feridas cutâneas de cães e gatos [Utilization of the methyl-2-cyanoacrylate adhesive and the nylon suture in surgical skin wounds of dogs and cats]. *Ciência Rural* [Internet]. 2001 Apr [citado em 10 Out 2008;31(2):285-9. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000200015.

Instituição como autor:

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust.* 1996;164:282-4.

Artigo eletrônico publicado antes da versão impressa

Yu WM, Hawley TS, Hawley RG, Qu CK. Immortalization of yolk sac-derived precursor cells. *Blood.* 2002 Nov 15;100(10):3828-31. Epub 2002 Jul 5.

Livro (como um todo)

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Capítulo de livro

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vokesltein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

RELATOS DE CASO CLÍNICO

Artigos predominantemente clínicos, de alta relevância e atualidade. Os relatos de caso devem apresentar a seguinte estrutura: página de título (em arquivo separado) resumo em português; palavras-chave; abstract; keywords; introdução; relato do caso; discussão; conclusão e referências. Não devem exceder 12 páginas, incluídos os quadros, as tabelas e as figuras, com até 20 citações.

ARTIGOS DE REVISÃO

Poderão ser aceitos para submissão, desde que abordem temas de interesse, atualizados. Devem ser elaborados por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber. Devem ter até 20 páginas, incluindo tabelas, quadros, figuras e referências. As tabelas, quadros e figuras limitadas a 06 no conjunto, devem incluir apenas os dados imprescindíveis. As figuras não devem repetir dados já descritos em tabelas. As referências bibliográficas devem ser limitadas a 60. Deve-se evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. Somente serão aceitas revisões integrativas, sistemáticas ou meta-análise.

Devem conter: página de título (em arquivo separado), resumos em português e em inglês (de 150 a 250 palavras), palavras-chave/keywords, introdução, método, resultados, discussão, conclusão, agradecimentos (caso necessário), referências.

EDITORIAIS

Colaborações solicitadas a especialistas de áreas afins, indicados pelo Conselho Editorial, visando analisar um tema de atualidade. Devem conter: página de título, Palavras-chave, Keywords, Texto em português, Referências (quando necessário). Os trabalhos não devem exceder a 2 páginas.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.

Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word (DOC ou DOCX).

URLs para as referências foram informadas quando possível.

O texto do trabalho deve estar conforme as NORMAS da revista (em espaço 1,5, fonte 12 Time New Roman), Figuras e Tabelas inseridas no texto (logo após o seu chamamento, Figuras em resolução mínima de 300 DPI). Os trabalhos não devem exceder ao número de páginas recomendado, em espaço 1,5. É importante ressaltar que pesquisas feitas com seres humanos e animais devem citar a aprovação da pesquisa pelo respectivo Comitê de Ética. A falta dessa aprovação impede a publicação do artigo. ATENÇÃO: trabalhos fora das Diretrizes para Autores não serão aceitos e serão devolvidos.

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na página Sobre a Revista.

Em caso de submissão a uma seção com avaliação pelos pares (ex.: artigos), as instruções disponíveis em Assegurando a avaliação pelos pares cega foram seguidas.

Declaração de Direito Autoral

Os autores devem revisar o trabalho antes de enviá-lo, autorizando sua publicação na revista Ciência e Saúde on-line.

Os Autores mantém os direitos autorais e concedem à revista o direito exclusivo de publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a Licença Creative Commons Attribution que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.

Devem declarar que o trabalho, nem outro substancialmente semelhante em conteúdo, já tenha sido publicado ou está sendo considerado para publicação em outro periódico, no formato impresso ou eletrônico, sob sua autoria e conhecimento. O referido trabalho está sendo submetido à avaliação com a atual filiação dos autores. Os autores ainda concordam que os direitos autorais referentes ao trabalho se tornem propriedade exclusiva da revista Ciência e Saúde on-line desde a data de sua submissão. No caso da publicação não ser aceita, a transferência de direitos autorais será automaticamente revogada.

Todas as afiliações corporativas ou institucionais e todas as fontes de apoio financeiro ao trabalho estão devidamente reconhecidas.

Por conseguinte, os originais submetidos à publicação, deverão estar acompanhados de Declaração de Direitos Autorais, conforme modelo:

DECLARAÇÃO DE DIREITOS AUTORAIS

Nós, abaixo assinados, transferimos todos os direitos autorais do artigo intitulado (título) à revista Ciência e Saúde on-line.

Declaramos ainda que o trabalho é original e que não está sendo considerado para publicação em outra revista, quer seja no formato impresso ou no eletrônico. Certificamos que participamos suficientemente da autoria do manuscrito para tornar pública nossa responsabilidade pelo conteúdo.

Assumimos total responsabilidade pelas citações e referências bibliográficas utilizadas no texto, bem como pelos aspectos éticos que envolvem os sujeitos do estudo.

Autorizo cópia total ou parcial desta obra, apenas para fins de estudo e pesquisa, sendo expressamente vedado qualquer tipo de reprodução para fins comerciais sem prévia autorização específica do autor. Autorizo também a divulgação do arquivo no formato PDF no banco de monografias da Biblioteca institucional.

Rafaela dos Santos Silva, Thamires Santos Silva e Uelder de Lima Teixeira da Silva

Pindamonhangaba, novembro de 2021.