

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE CURSO DE BIOMEDICINA

MARLOANNY ALVES ROLDÃO

A FAIXA ETÁRIA INFLUI NA REINFECÇÃO POR Strongyloides venezuelensis DE RATOS wistar?



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE CURSO DE BIOMEDICINA

#### MARLOANNY ALVES ROLDÃO

# A FAIXA ETÁRIA INFLUI NA REINFECÇÃO POR Strongyloides venezuelensis DE RATOS wistar?

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof.ª Dra. Luana dos Anjos Ramos

Barra do Garças

### MARLOANNY ALVES ROLDÃO

# A FAIXA ETÁRIA INFLUI NA REINFECÇÃO POR Strongyloides venezuelensis DE RATOS wistar?

Monografia julgada e aprovada para a obtenção do grau de Bacharelado em Biomedicina do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Universitário do Araguaia - UFMT.

Barra do Garças, 19 de março de 2019.

#### BANCA EXAMINADORA

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luana Dos Anjos Ramos

Orientadora

Profa. Dra. Ludier Kesser Santos Silva - UFMT

Examinadora

Profa. Dra. Marcia C. Pascotto - UFMT

Examinadora

Barra do Garças- MT

2019

# DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus, família e amigos que sempre estiveram ao meu lado, me incentivando e acreditando na minha capacidade.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo que tem feito em minha vida, por me iluminar a cada passo dessa trajetória e me dar forças a cada momento conturbado.

Agradeço a Prof.ª Drª Luana dos Anjos Ramos pela oportunidade, pelos ensinamentos, pela confiança ao me designar este projeto e disponibilidade para auxiliar nas eventuais dificuldades, foi um prazer tê-la como orientadora.

Ao corpo docente da Biomedicina por todo conhecimento transmitido, cada um com sua maneira de lecionar fez possível minha chegada até aqui.

A banca avaliadora pela disponibilidade em colaborar com este trabalho.

Aos membros do LACIIM por toda ajuda, a qual foi essencial para realização desse trabalho, em especial a Cláudia Ribeiro, que me guiou do início ao fim desse projeto.

Minha imensa gratidão aos meus pais, Marloan Tavares Roldão e Marlene Alves de Sousa por sempre acreditarem no meu potencial.

A minha irmã, Maianny Alves Roldão por jogar comigo e me distrair nos momentos de tédio.

Ao meu companheiro Arthur França Salles, não apenas por todo o apoio durante esse trabalho, mas também por ser meu porto seguro em todas as situações difíceis e por me divertir nos momentos em que estava me sentindo pra baixo.

A minha avó Maria de Lourdes pelo carinho e os cafés feitos especialmente pra mim.

As amigas especiais que fiz no decorrer da graduação, Thalissa, Izabela, Bruna e Bárbara, as quais sempre estiveram ao meu lado me ajudando.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

#### **RESUMO**

Os helmintos do gênero Strongyloides, causadores da doença intestinal estrongiloidíase infectam atualmente cerca de 30 a 100 milhões de pessoas no mundo, com maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais. É sabido que fatores como a idade podem influir na resposta imunológica do hospedeiro, uma vez que indivíduos da 3ª idade tendem a ter um decréscimo da resposta imunológica devido à determinados eventos fisiológicos. Para a compreensão dessa parasitose, a espécie Strongyloides venezuelensis, parasita natural de roedores, tem sido muito utilizado como modelo experimental devido a semelhanças do ciclo biológico. Apesar de alguns estudos já terem sido realizados a respeito, pouco se sabe sobre a relação entre a faixa etária e a reinfecção. Diante disso, o objetivo desse estudo foi analisar as implicações parasitológicas da reinfecção por S. venezuelensis em ratos de diferentes idades. Trata-se de um estudo experimental em ratos wistar reinfectados aos 6, 12 e 18 meses com larvas infectantes de S. venezuelensis, recuperadas através do método de Baermann-Moraes. A técnica denominada OPG foi utilizada para averiguar o sucesso da infecção e acompanhá-la durante o período experimental. Foram coletados dados para análise fisiológica e morfológica, assim como contagem de leucócitos e de vermes adultos para compreensão e análise dos efeitos da reinfecção nesses ratos. Os ratos com 6 meses de idade apresentaram melhor recuperação pós infecção, e juntamente com o grupo de 12 meses tiveram resposta imunológica mais intensa quando comparados ao grupo de 18 meses, essa resposta pode ser responsável pela diminuição da fecundidade dos vermes adultos presentes em seus intestinos. Pode-se concluir que ratos mais novos reexpostos aos parasito tendem a responder melhor a reinfecção por S. venezuelensis.

Palavras-chave: Strongyloides, grupos etários, infecção, parasitologia.

#### **ABSTRACT**

Helminths of the genus Strongyloides, causers of intestinal disease strongyloidiasis currently infect an estimated 30-100 million people worldwide, with higher prevalence in tropical and subtropical regions. It is known that factors such as age may influence the immune response of the host, since individuals of the third age tend to have a decrease in the immune response due to certain physiological events. For the understanding of this parasitosis, the species Strongyloides venezuelensis, a natural parasite of rodents, has been widely used as an experimental model due to similarities of biological cycle. Although some studies have already been carried out in this context, little is known about the relationship between age and reinfection. Therefore, the objective of this study was to analyze the parasitological implications of S. venezuelensis reinfection in rats of different ages. This is an experimental study in wistar rats reinfected at 6, 12 and 18 months with infective larvae of S. venezuelensis, recovered using the Baermann-Moraes method. The OPG technique was used to verify the success of the infection and follow it during the experimental period. Data were collected for physiological and morphological analysis, as well as leukocyte count and adult worms to comprehension and analysis of the effects of these mice reinfection. The 6-month-old rats showed better postinfection recovery, and along with the 12-month group had stronger immune response when compared to the group 18 months, this response may be responsible for decreasing the fecundity of the adult worms present in their intestines. It may be concluded that younger rats re-exposed to the parasite tend to respond better to S. venezuelensis reinfection.

**Key words:** Strongyloides, age groups, infection, parasitology

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Parâmetros fisiológicos	.25
Figura 2: Parâmetros morfométricos	.26
Figura 3: Contagem de células	.27
Figura 4: Parâmetros parasitológicos	.28

# SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	
MÉTODO	14
Parâmetros fisiológicos	15
PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS	16
CONTAGEM DE LEUCÓCITOS	16
Parâmetros parasitológicos	16
Análise estatística	17
RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
Parâmetros fisiológicos	18
Parâmetros morfométricos	18
CONTAGEM DE CÉLULAS	19
PARÂMETROS PARASITOLÓGICOS	19
CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ANEXOS	30
ANEXO I – Normas da Revista	30
ANEXO II - CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA	62

TÍTULO: A FAIXA ETÁRIA INFLUI NA REINFECÇÃO POR Strongyloides venezuelensis DE RATOS wistar?

**TITLE:** DO THE AGE GROUPS INTERFER ON *Strongyloides venezuelensis* REINFECTION IN wistar RATS?

**TÍTULO**: LO GRUPO DE EDAD INFLUYE EN LA INFECCIÓN POR Strongyloides venezuelensis DE RATOS wistar?

#### **AUTORES:**

Roldão, Marloanny Alves;

Anjos-Ramos, Luana

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde,

UFMT- Universidade Federal de Mato Grosso,

Barra do Garças, Mato Grosso, Brasil.

Autor correspondente -

Luana dos Anjos Ramos

E-mail: <u>luana.anjosramos@gmail.com</u>

Telefone: (66) 99936-3888

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde,

UFMT- Universidade Federal de Mato Grosso,

Avenida Valdon Varjão, nº 6.390. CEP: 78600-000

Barra do Garças, Mato Grosso, Brazil.

#### **RESUMO:**

**Objetivo:** Analisar as implicações parasitológicas da reinfecção por *Strongyloides venezuelensis* em ratos *wistar* de diferentes idades. **Método:** Trata-se de um estudo experimental em ratos *wistar* reinfectados aos 6, 12 e 18 meses com 3.000 larvas infectantes de *S. venezuelensis*, recuperadas através do método de Baermann-Moraes. O número de ovos por grama de fezes, bem como parâmetros fisiológicos e morfológicos foi acompanhado durante o período experimental. Ao final, os animais foram mortos e os dados para análise fisiológica e morfológica, assim como contagem de leucócitos e de vermes adultos no intestino foram coletados. **Resultados:** Os ratos com 6 meses de idade apresentaram melhor recuperação pós-infecção, e juntamente com o grupo de 12 meses tiveram resposta imunológica mais intensa quando comparados ao grupo de 18 meses, essa resposta pode ser responsável pela diminuição da fecundidade dos vermes adultos presentes em seus intestinos. **Conclusão:** Ratos mais novos reexpostos aos parasito tendem a responder melhor a reinfecção por *S. venezuelensis*.

Descritores: Strongyloides; Grupos etários; Infecção, Parasitologia.

#### **ABSTRACT:**

**Objective:** To analyze the parasitological implications of *Strongyloides venezuelensis* reinfection in *wistar* rats of different ages. **Method:** This is an experimental study in *wistar* rats re-infected at 6, 12 and 18 months with 3,000 *S. venezuelensis* infective larvae, recovered using the Baermann-Moraes method. The number of eggs per gram of faeces, as well as physiological and morphological parameters was monitored during the experimental period. At the end, the animals were killed and the data for physiological and morphological analysis, as well as counts of leukocytes and adult worms in the intestine were collected. **Results:** The 6-month-old rats showed a better post-infection recovery and, together with the 12-month group, had a more intense immune response when compared to the 18-month group, this response may be responsible for the decrease in the fecundity of adult worms present in your intestines. **Conclusion:** Younger rats reexposed to the parasite tend to respond better to *S. venezuelensis* reinfection.

**Descriptors:** Strongyloides; Age groups; Infection; Parasitology.

#### **RESUMEN:**

**Objetivo:** Analizar las implicaciones parasitológicas de la reinfección por *Strongyloides* venezuelensis en ratas wistar de diferentes edades. **Método:** Se trata de un estudio experimental en ratas wistar reinfectado a los 6, 12 y 18 meses con 3.000 larvas infectantes de *S. venezuelensis*, recuperadas a través del método de Baermann-Moraes. El número de huevos por gramo de heces, así como parámetros fisiológicos y morfológicos fue acompañado durante el período experimental. Al final, los animales fueron muertos y los datos para análisis fisiológico y morfológico, así como el recuento de leucocitos y de gusanos adultos en el intestino fueron recolectados. **Resultados:** Los ratas de 6 meses de edad presentaron una mejor recuperación post-infección, y junto con el grupo de 12 meses tuvieron respuesta inmunológica má intensa cuando se comparó con el grupo de 18 meses, esta respuesta puede ser responsable de la disminución de la fecundidad de los gusanos

adultos presentes en sus intestinos. **Conclusión:** Ratas más jóvenes reexpuestas a los parásitos tienden a responder mejor a la reinfección por S. *venezuelensis*.

Descriptores: Strongyloides; Grupos de edad; Infección; Parasitología.

## INTRODUÇÃO

Os helmintos são um grupo constituído por numerosos vermes de espécies que apresentam formas de vida livre e parasitária, estes são divididos em três filos: Platyhelminthes, Aschelminthes e Acanthocephala. Dentro do filo Aschelminthes se encontram os parasitos do gênero *Strongyloides*, no qual o nematódeo *S. stercoralis* é o causador da Estrongiloidíase <sup>1</sup>, parasitose intestinal que afeta aproximadamente de 30 a 100 milhões de pessoas no mundo, tendo maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais <sup>2</sup>. A infecção apresenta-se de forma crônica e assintomática em imunocompetentes e, quando os sintomas aparecem, são inespecíficos. Entretanto, em imunocomprometidos, onde se tem uma resposta imunológica prejudicada, os vermes multiplicam-se descontroladamente e disseminam-se por todo o corpo, levando a uma hiperinfecção com danos graves e letais ao hospedeiro <sup>3,4</sup>.

A infecção se dá a partir de penetração ativa de larvas infectantes L3 na pele do hospedeiro, que através da corrente sanguínea chegam ao pulmão, transformando-se em L4. Essas larvas continuam sua migração para faringe, onde podem ser eliminadas por expectoração, ou serem deglutidas e atingir a mucosa do intestino delgado, seu habitat natural, evoluindo para fêmeas partenogenéticas L5. Essas fêmeas realizam deposição de ovos larvados, e ao eclodirem liberam larvas rabditoides que são eliminadas junto às fezes. Larvas rabditoides podem evoluir para filarióides infectantes ainda no intestino do hospedeiro, e através de penetração da mucosa intestinal atingir a corrente sanguínea, iniciando novo ciclo infeccioso, denominado autoinfecção <sup>3,5</sup>.

Strongyloides venezuelensis é um nematódeo intestinal pertencente à mesma família do *S. stercoralis*, Estrongiloididae, que consegue completar seu ciclo em roedores, como ratos e camundongos. Devido sua fácil manutenção em laboratório e ciclo de vida semelhante ao do *S. stercoralis*, tem sido muito utilizado como modelo experimental para a compreensão da estrongiloidíase em humanos <sup>6,7</sup>. A infecção ocorre quando larvas L3 através da corrente sanguínea atingem o pulmão, transformando-se em L4 e após deglutição passam a fêmeas partenogenéticas no intestino delgado. Ao contrário do que

acontece no ciclo do S. stercoralis, são eliminados ovos junto com as fezes do hospedeiro, portanto, como a muda de L1 para L3 sempre acontece no solo, não ocorre autoinfecção<sup>5</sup>.

Em uma infecção por *Strongyloides* spp. a resposta imunológica desencadeada é atípica por ativar tanto a resposta Th1 quanto a Th2, orquestradas por TReg, a qual geralmente resulta em eosinofilia e aumento do número de mastócitos na mucosa local<sup>8-10</sup>. Os resultados das ações combinadas dessas células, assim como outros aspectos da imunidade do hospedeiro, são manifestados através da eliminação de parasitas adultos, diminuição da fecundidade da fêmea, redução do tamanho do verme, falha no estabelecimento e impedimento do desenvolvimento das larvas no organismo do hospedeiro <sup>11</sup>. É sabido que fatores como a idade podem influir na resposta imunológica do hospedeiro, uma vez que indivíduos da 3ª idade tendem a ter um decréscimo da resposta imunológica devido à perda de função do timo, entre outros eventos fisiológicos<sup>12,13</sup>.

Infecções por nematódeos geralmente são seguidas de altas taxas de reinfecção, levando à uma prevalência elevada em regiões endêmicas. Após uma infecção primária por *S. venezuelensis*, os ratos desenvolvem grande resistência à reinfecção. Desta forma, quando reinfectados, grande parte das larvas sofrem ação da imunidade protetora ainda na rota de migração, ocasionando morte de grande maioria das mesmas. Poucos exemplares conseguem atingir o intestino delgado, e quando conseguem, sofrem redução da fecundidade e são eliminados prematuramente, o que resulta em uma diminuição da carga parasitária <sup>7,14,15</sup>.

Vários aspectos sobre a estrongiloidíase já são conhecidos, como a ocorrência de hiperinfecção, resposta imunológica, prevalência, entre outros<sup>16-18</sup>. Apesar de alguns estudos já terem sido realizados a respeito, pouco se sabe sobre a relação entre a faixa etária e a reinfecção. As pesquisas realizadas nesse sentido utilizam principalmente ratos adultos jovens, o que torna necessário um estudo para compreensão das implicações de uma reinfecção em faixas etárias distintas.

Diante disso, o objetivo desse estudo foi analisar as implicações parasitológicas da reinfecção por S. *venezuelensis* em ratos *wistar* de diferentes idades.

#### MÉTODO

#### Desenho experimental

A idade dos ratos dos grupos desse experimento foi definida a partir de idade correspondente em humanos, através da adaptação do que se encontra nos trabalhos de Jackson et al <sup>19</sup> e Sengupta <sup>20</sup>. Determinamos então que ratos de 6 meses representariam homens com idade entre 25 e 34 anos, homens de meia-idade de 35 a 44 anos seriam representados por ratos de 12 meses, e ratos de 18 meses representariam adultos no início do envelhecimento, com idade entre 45 e 59 anos.

Foram utilizados 17 ratos machos adultos da linhagem wistar (Rattus norvegicus), originários do Biotério Central do Campus de Cuiabá da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Os animais foram mantidos durante todo experimento sob condições adequadas de temperatura e luz, e livre acesso a água e ração no Laboratório de Acupuntura Científica e Investigações Infecto-Morfológicas (LACIIM). O projeto foi aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL (CEPA) da Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT (n. 23108.002959/13-3). Os ratos foram separados em 3 grupos experimentais de acordo com a faixa etária correspondente ao período da reinfecção:

- Grupo reinfectado aos 6 meses de idade (N=6), denominado Re-6m;
- Grupo reinfectado aos 12 meses de idade (N=6), denominado Re-12m;
- Grupo reinfectado aos 18 meses de idade (N=5), denominado Re-18m.

Após a chegada ao laboratório, todos os animais foram vermifugados com ivermectina 1% Mogimec® via subcutânea com (0,2 ml/mg) segundo descrição da bula. Realizou-se o procedimento de sedimentação espontânea para verificar a eficácia da vermifugação na eliminação de outros parasitos.

Confirmado o sucesso da vermifugação, prosseguiu-se a infecção dos ratos com 3.000 larvas infectantes L3, por via subcutânea no dorso dos animais. O acompanhamento da infecção deu-se em um período de 21 dias, sendo a cada 3 dias realizada a contagem de ovos por gramas de fezes (OPG), obtenção de dados como peso corpóreo, peso das fezes, consumo de água e ração. Ao final do experimento, no 21° dia pós infecção (dpi), foi realizada a morte dos animais por decapitação em guilhotina. Obteve-se a pesagem dos órgãos e contagem de vermes adultos após laparoscopia do intestino delgado.

A cepa de *Strongyloides venezuelensis* utilizada para infecção foi obtida de gerbilos (*Meriones unguiculatos*) previamente infectados e mantidos no LACIIM - CUA/UFMT. Esta cepa é proveniente do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais, doadas pelo Prof° Dr° Allan de Melo, mantidas em laboratório desde 1987. A obtenção das larvas deu-se através de coprocultura das fezes dos gerbilos, a qual se dá pela maceração das fezes e adição de vermiculita. A mistura foi armazenada em incubadora (BOD Digital - CienlaB) a 27°C em períodos de 3 a 7 dias. Para adquirir as larvas em estágio infectante (L3), as culturas foram submetidas à técnica de Baermann-Moraes<sup>21</sup>. princípio desse método é o uso do termotropismo e hidrotropismo positivo dessas larvas para concentrá-las em um volume reduzido. O procedimento se dá pelo envolvimento das coproculturas por gaze, as quais são deixadas sob uma peneira em funis preenchidos com água a 43°C, acoplados a tubos de ensaio, que após 2 horas sob influência de luz, resulta na decantação das larvas no fundo dos tubos ¹.

O conteúdo da recuperação foi lavado 3 vezes em centrífuga 80-2B-15MLCentrilab®, configurada em 3.000 rotações por minuto durante 3 minutos, reduzindo a um volume de 5ml. A contagem das larvas foi feita em 20µL (triplicata), calculou-se o volume necessário para infectar cada rato com aproximadamente 3.000 L3, por via subcutânea no dorso. A primeira infecção dos ratos ocorreu aos 3 meses de idade, o primeiro grupo teve sua reinfecção aos 6 meses, o segundo grupo aos 12 meses e o terceiro aos 18 meses, sendo acompanhados durante 21 dias com realização de OPG a cada 3 dias para averiguar o sucesso da infecção. Durante o intervalo até a reinfecção, os animais foram mantidos em condições ideais de acesso a água, ração, temperatura ambiente e limpeza, até a idade que seriam submetidos a segunda infecção. Em todos os grupos houve a realização do exame parasitológico de fezes (EPF) às vésperas da reinfecção para descartar a presença de outros parasitos no organismo.

#### Parâmetros fisiológicos

Durante o período experimental, a cada 3 dias foi realizada a coleta dos parâmetros fisiológicos dos animais. Para a coleta, os ratos eram deixados individualmente em caixas anticoprofágicas com quantidade de água e ração conhecida (500ml de água e 50g de ração, respectivamente). Para obtenção do consumo, foi realizada subtração da

quantidade de água e ração deixada previamente, da quantidade não consumida. Uma balança eletrônica semi-analítica Bioscale® convencional foi utilizada na pesagem de ração, e água foi medida através de proveta graduada. Nesses mesmos dias eram adquiridos também, dados como peso corpóreo e peso das fezes, ambos utilizando balança eletrônica semi-analítica (Bioscale BL-2200AS-BI).

Todos os dados foram analisados em programa estatístico Prima® e submetidos aos testes estatísticos

#### Parâmetros morfométricos

O intestino delgado, timo e pulmão foram separados após laparotomia no 21° dpi, e em seguida pesados individualmente em balança eletrônica semi-analítica. O peso de cada órgão foi dividido pelo peso corpóreo de cada animal no 21° dpi para descartar influência do tamanho do animal e obtenção do peso relativo de cada órgão.

#### Contagem de leucócitos

Foi realizado esfregaço de sangue em duplicata de todos os animais para contagem diferencial de leucócitos. Utilizou-se microscópio óptico binocular Lumen, em aumentos de 40 e 100x para identificação e quantificação das células.

#### Parâmetros parasitológicos

A contagem de ovos foi realizada seguindo protocolo descrito previamente<sup>22,23</sup>. Os animais foram deixados individualmente em caixas anticoprofágicas durante 24 horas, as fezes recolhidas foram pesadas em balança semi-analítica, e 2 gramas foram fixadas com 1mL de formol 5%. As amostras de fezes foram maceradas e diluídas em 27 mL de solução saturada, a mistura foi filtrada por gaze, e após homogeneização aplicada a câmara de McMaster e levadas ao microscópio para contagem de ovos presentes no gradeado. O OPG é obtido ao final da contagem com a multiplicação do número de ovos observados pelo fator 50.

Após a morte dos animais, os mesmos tiveram sua cavidade abdominal aberta e seu intestino delgado retirado, o qual foi colocado em placa de Petri com solução salina 0,85%,

e para exposição da luz intestinal o órgão sofreu um corte longitudinal. Usou-se o método de Baermann-Moraes para recuperação das larvas, onde em uma estufa a 37°C o intestino delgado foi suspenso por gaze em contato com solução salina contida em um cálice, sendo virado a cada 1 hora durante 3 horas. Completado as 3 horas, ao volume da recuperação foi adicionado formol 5% para fixação e conservação das larvas para contagem posterior. Ao final da contagem, o valor do OPG do 21° dpi foi dividido pelo número total de larvas recuperadas de cada animal para obtenção da fecundidade do parasito.

#### Análise estatística

Todos os resultados foram analisados pelo Programa Prism @, utilizando analise de variância ANOVA 2way com pós-teste de Bonferroni para os dados de peso corporal, peso das fezes, consumo de água, ração e OPG. Para o n° de vermes, fecundidade, contagem de leucócitos, peso dos pulmões, timo e ID utilizou-se teste t com pós teste de Mann Whitney. Os resultados foram apresentados como media  $\pm$  erro padrão e considerado significativo P < 0.05.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Ao longo de todo o experimento não houve mortes espontâneas ou sinais provenientes de maus tratos, demonstrando a reprodutibilidade e segurança desse protocolo experimental.

#### Parâmetros fisiológicos

A figura 1 apresenta os valores de peso corporal (1A), peso das fezes (1B), consumo de água (1C) e ração (1D) dos grupos experimentais, medidos ao longo do período de 21 dias de duração do experimento.

Comparado ao grupo Re-12m e Re-6m, o grupo Re-18m apresentou redução significativa no peso das fezes, consumo de água e ração, sem diferença de peso corporal. Essa diferença pode estar relacionada a mudanças fisiológicas que ocorrem com o avanço da idade <sup>24,25</sup>. Os animais reinfectados aos 6 meses de idade tiveram ganho constante de peso corporal, o que não acontece nos grupos de idade mais elevada. Isso possivelmente se associa uma maior capacidade de recuperação após reinfecção em hospedeiros mais jovens.

#### Parâmetros morfométricos

Na figura 2 estão representados os pesos relativos do pulmão (2A), timo (2B) e intestino delgado (2C) em relação ao peso corpóreo, assim como o ganho de peso (2D) de cada grupo.

Quando comparado aos demais grupos, o grupo Re-12m apresentou menor peso do timo e o peso do pulmão foi significativamente menor em relação ao grupo Re-18m. O grupo Re-6m apresentou o maior peso relativo do intestino delgado, o que pode indicar maior reatividade na fase intestinal da reinfecção. O grupo Re-6m também teve maior ganho de peso em relação aos demais grupos, em contramão, os ratos reinfectados aos 18 meses sofreram perda de peso. Apesar de não significativo, vemos na figura 2B que o grupo Re-6m tem uma tendência a apresentar maior peso do timo em relação aos outros grupos experimentais. Assim, esse dado deve ser confirmado em experimentos futuros, corroborando com a resposta imunológica apresentada nesse grupo.

#### Contagem de células

A contagem diferencial de células leucocitárias ao 21° dpi está representada na figura 3. O grupo Re-18m teve maior número de linfócitos (3A) e monócitos (3B) quando comparado aos demais grupos, entretanto, apresentou redução significativa no número de neutrófilos (3E) e eosinófilos (3C). Apesar desse dado não fornecer informações suficientes para entender de que forma a resposta imunológica se comporta nas diferentes idades analisadas, nos indica que essa resposta pode ter um perfil diferente conforme há o avanço da idade, estando de acordo com o observado previamente <sup>25,26</sup>.

É sabido que o processo de envelhecimento, de fato, leva a perdas na resposta inata que afetam diretamente a saúde do indivíduo idoso, expondo-o a infecções com maior facilidade<sup>25,26</sup>. Um dos fatores preponderantes para favorecer infecções em indivíduos idosos é o tecido tímico ser em grande parte substituído por tecido conjuntivo, o que dificulta a maturação das células T <sup>27</sup>. A resposta Th2 deflagrada pela presença de helmintos faz com que o eosinófilos atuem fortemente na expulsão do parasito, sendo de grande importância para a eliminação da infecção <sup>11,28</sup>. A resposta eficaz à infecção por S. venezuelensis depende de uma orquestrada resposta imunológica de Th1 e Th2 <sup>29-31</sup>. Assim, podemos intuir que os achados morfométricos de peso relativo do pulmão, timo e intestino estão ligados possivelmente a resposta imunológica observada nesse modelo de infecção. No entanto, a comprovação desta relação deve ser ainda melhor explicitada.

#### Parâmetros parasitológicos

A contagem de OPG durante o período experimental, assim como a contagem de vermes adultos ao 21º dpi, estão representados na figura 4.

Observa-se um pico de oviposição no 9° dpi em todos os grupos, o que é esperado durante a infecção por *S. venezuelensis* <sup>32,33</sup> e demonstra que o perfil da reinfecção se assemelha ao da infecção primária. No entanto, o grupo Re-18m teve um pico significativamente maior quando comparado ao Re-6m e Re-12m. Ao final do experimento, no 21° dpi, o grupo Re-18m teve o menor número de vermes recuperados. Apesar disso, no 21° dpi apenas no grupo Re-18m foram encontrados ovos, o que impossibilitou aferir a fecundidade nos demais grupos.

Assim, em conjunto esses resultados nos mostram que em ratos reinfectados em idade equivalente a adulta e meia-idade a oviposição é menos intensa ao longo do experimento e as fêmeas que permanecem ao final dos 21 dias de experimentos não são capazes de ovipor. Já em ratos que representam o início do processo de envelhecimento em humanos permitem uma maior oviposição ao longo do experimento, mas conseguem eliminar um maior número de vermes. No entanto, os que permanecem continuam a eliminar ovos nas fezes, o que possivelmente mantém a capacidade de proliferação da infecção.

Em humanos, o *S. stercoralis* ao ter acesso ao hospedeiro e se instalar no intestino delgado pode provocar sintomas diversos como constipação, diarreia e dores abdominais<sup>34,35</sup>. No entanto, pode permanecer no hospedeiro de forma assintomática por décadas até que uma situação de imunossupressão permita que as fêmeas voltem a ovipor de forma intensa e assim gerar uma doença disseminada e hiperinfecção <sup>36,37</sup>.

Uma vez que o processo de envelhecimento por si só já gera uma deficiência imunológica, esses indivíduos de fato se tornam propensos a desenvolver a forma mais grave da parasitose. Aqui vemos que a reexposição dos indivíduos ao *S. venezuelensis* no início desse processo (Re-18m) já é alterada gerando um perfil de infecção diferente dos indivíduos adultos (Re-6m) ou ainda em meia-idade (Re-12m), representados. O *S. venezuelensis* como parasito natural de roedores, não é capaz de promover a autoinfecção como o *S. stercoralis*, devido a eliminação de ovos nas fezes e não de larvas L1 de ovos já eclodidos <sup>29,38</sup>. Isso de alguma forma dificulta a reprodução em laboratório de certos aspectos mais específicos da autoinfecção.

Este artigo propôs o estudo da reinfecção em diferentes idades como uma tentativa de entender e se aproximar, o 2° ciclo desenvolvido pelo parasito. A resposta imunológica à reinfecção com *S. stercoralis* já foi previamente descrita <sup>39</sup>, e a reinfecção com *S. venezuelensis* também foi estudada em camundongos e gerbilos <sup>7,40</sup>, corroborando com nossos achados, porém o estudo em diferentes idades é feito pela primeira vez nesse trabalho. Estudos aprofundados da resposta imunológica e do perfil parasitológico devem ser conduzidos afim de aprofundar nossos achados.

# **CONCLUSÃO**

Diante do exposto podemos concluir que a idade interfere na relação parasitohospedeiro durante a reinfecção por *S. venezuelensis*. Ratos reexpostos ao parasito mais jovens tendem a responder melhor ao parasitismo. Estudos mais aprofundados devem ser realizados para um entendimento mais aprofundado.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Neves, David Pereira; Melo, Alan Lane; Linardi, Pedro Marcos; Vitor RWA. Parasitologia Humana. 12º ed. São Paulo: Atheneu; 2011.
- 2. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, et al. Soiltransmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. Lancet. 2006;367:1521-1532.
- 3. Grove D, Queen T, Hospital E, South A. Human Strongyloidiasis. In: Advances in Parasitology. 1996. p. 252-309.
- 4. Olsen A, Lieshout L van, Marti H, Polderman T, Polman K, Steinmann P, et al. Strongyloidiasis the most neglected of the neglected tropical diseases? Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2009;103(10):967-972.
- 5. Rey L. Parasitologia Rey. 4º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.
- 6. Marra NM. Infecção experimental de ratos (rattus norvegicus) da linhagem lewis por *Strongyloides venezuelensis*: dinâmica da infecção, uso de pcr para detecção do parasita e caracterização da resposta imune humoral. UNESP. 2009;
- 7. Schilter HC, Pereira ATM, Eschenazi PD, Fernandes A, Shim D, Sousa ALS, et al. Regulation of immune responses to Strongyloides venezuelensis challenge after primary infection with different larvae doses. Parasite Immunol. 2010;32(3):184-192.
- 8. Fernandes A, Pereira ATM, Eschenazi PD, Schilter HC, Sousa ALS, Teixeira MM, et al. Evaluation of the immune response against Strongyloides venezuelensis in antigen-immunized or previously infected mice. Parasite Immunol. 2008;(July 2007):139-149.
- 9. Bleay C, Wilkes CP, Paterson S, Viney ME. Density-dependent immune responses against the gastrointestinal nematode Strongyloides ratti. Int. J. Parasitol. 2007;37(13):1501-1509.
- 10. Blankenhaus B, Klemm U, Sparwasser T, Breloer M, Jacobs T, Huehn J, et al. Strongyloides ratti Infection Induces Expansion of Foxp3+ Regulatory T Cells That

- Interfere with Immune Response and Parasite Clearance in BALB/c Mice. J. Immunol. 2011;186(7):4295-4305.
- 11. Onah DN, Nawa Y. Mucosal immunity against parasitic gastrointestinal nematodes. Korean J. Parasitol. 2000;38(4):209-236.
- 12. Dewan SK, Zheng S, Xia S, Bill K. Senescent remodeling of the immune system and its contribution to the predisposition of the elderly to infections. Chin. Med. J. (Engl). 2012;125(18):3325-3331.
- 13. Cepeda S, Carolina C, Xiao Y, Griffith A. Age-associated changes in intrathymic B cell function. J. Immunol. 2018;
- 14. SATO, Y.; TOMA H. Strongyloides venezuelensis INFECTIONS IN MICE. Int. J. Parasitol. 1990;20:57-62.
- 15. Baek BK, Islam MK, Kim BS, Lim CW, Hur J, Oluoch AO, et al. Characterization of the protective response against a homologous challenge infection with Strongyloides venezuelensis in rats. Vet. Parasitol. 2003;113:217-227.
- 16. Vasconcelos PRL de, Maia TMC, Fauth S, Neto RM. Hiperinfestação por *Strongyloides stercoralis*. Rev. Bras. em Promoção da Saúde. 2006;19:118-121.
- 17. Yasuda K, Matsumoto M, Nakanishi K. Importance of both innate immunity and acquired immunity for rapid expulsion of S. venezuelensis. Front. Immunol. 2014;5(MAR):1-5.
- 18. Puthiyakunnon S, Boddu S, Li Y, Zhou X, Wang C, Li J, et al. Strongyloidiasis—An Insight into Its Global Prevalence and Management. PLoS Negl. Trop. Dis. 2014;8(8):12.
- 19. Jackson SJ, Andrews N, Ball D, Bellantuono I, Gray J, Hachoumi L, et al. Does age matter? The impact of rodent age on study outcomes. Lab. Anim. 2017;51(2):160-169.
- 20. P Sengupta. The laboratory rat: relating its age with human's. Int. J. Prev. Med. 2013;4.6(September):624.
- 21. Rugai E, Mattos T, Erisola AP. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes-modificação do método de Baermann. Rev Inst Adolfo Lutz. 1954;14(1):5-8.

- 22. Marques PD, Malta FM, Meisel DMCL, Corral MA, Pinho JR, Costa-Cruz JM, et al. Diagnosis of the strongyloid nematode Strongyloides venezuelensis in experimentally infected rats. J. Helminthol. 2016;90(4):422-427.
- 23. Ribeiro SR, Maia CO, Pereira FEL, Moreira NIB. Comparative study of cultivation of feces in vermiculite or charcoal to obtain larvae of Strongyloides venezuelensis. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2014;47(5):657-658.
- 24. Argüelles S, Guerrero-Castilla A, Cano M, Muñoz MF, Ayala A. Advantages and disadvantages of apoptosis in the aging process. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2019;1-14.
- 25. DiLoreto R, Murphy CT. The cell biology of aging. Mol. Biol. Cell. 2015;26(25):4524-4531.
- 26. Hämäläinen A, Raharivololona B, Ravoniarimbinina P, Kraus C. Host sex and age influence endoparasite burdens in the gray mouse lemur. Front. Zool. 2015;12:25.
- 27. Rodella LF, Favero G, Peroni M, Nardo L, Rezzani R. Thymus and aging: morphological, radiological, and functional overview. Age (Omaha). 2014;36(1):313-351.
- 28. Marichal T, Mesnil C, Bureau F. Homeostatic Eosinophils: Characteristics and Functions. Front. Med. 2017;4:1-6.
- 29. BRELOER M, ABRAHAM D. Strongyloides infection in rodents: immune response and immune regulation. Parasitology. 2017;1-21.
- 30. Rodrigues RM, Cardoso CR, Gonçalves ALR, Silva NM, Massa V, Alves R, et al. Increased susceptibility to Strongyloides venezuelensis infection is related to the parasite load and absence of major histocompatibility complex (MHC) class II molecules. Exp. Parasitol. 2013;135(3):580-586.
- 31. Peres RS, Chiuso-Minicucci F, Rosa LC da, Domingues A, Zorzella-Pezavento SFG, França TGD, et al. Previous contact with Strongyloides venezuelensis contributed to prevent insulitis in MLD-STZ diabetes. Exp. Parasitol. 2013;134(2):183-189.
- 32. Anjos-ramos L, Gama LA, Mati VLT, Corá LA, Fujiwara RT, Americo MF. Evaluation of gastrointestinal transit after infection with different loads of Strongyloides venezuelensis in rats. Acta Trop. 2016;156:43-47.

- 33. Anjos-Ramos L dos, Gama LA, Hauschildt AT, Fujiwara RT, Corá LA, Américo MF. Electroacupuncture in rats infected with Strongyloides venezuelensis: effects on gastrointestinal transit and parasitological measurements. Acupunct. Med. 2017;36:44-51.
- 34. Zaha, O; Hirata, T, Kinjo, F; Saito A. Strongyloidiasis-Progress in Diagnosis and Treatment. Intern. Med. 2000;39(9):695-700.
- 35. Gastaldi LA. Parasitoses Entéricas. Dep. Parasitol. da Univ. Fed. St. Catarina. 2012;1:1-7.
- 36. Beknazarova M, Whiley H, Ross K. Strongyloidiasis: A disease of socioeconomic disadvantage. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2016;13(5):517.
- 37. Carrada-bravo T. Strongyloides stercoralis: Ciclo vital, cuadros clinicos, epidemiología, patología y terapéutica. Rev Med Patol Clin. 2008;55(2):88-110.
- 38. Maruyama H, Aoki M, Okamura S, Yoshida A, Itagaki T, Ohta N. Adult worms of the rodent intestinal nematode, Strongyloides venezuelensis, successfully invade chick intestinal mucosa. Parasitol. Int. 2003;52(1):35-39.
- 39. Khieu V, Hattendorf J, Schär F, Marti H, Char MC, Muth S, et al. Strongyloides stercoralis infection and re-infection in a cohort of children in Cambodia. Parasitol. Int. 2014;63(5):708-712.
- 40. Khan AI, Horii Y, Nawa Y. Defective mucosal immunity and normal systemic immunity of Mongolian gerbils, Meriones unguiculatus, to reinfection with Strongyloides venezuelensis. Parasite Immunol. 1993;15(10):565-571.

# **FIGURAS**

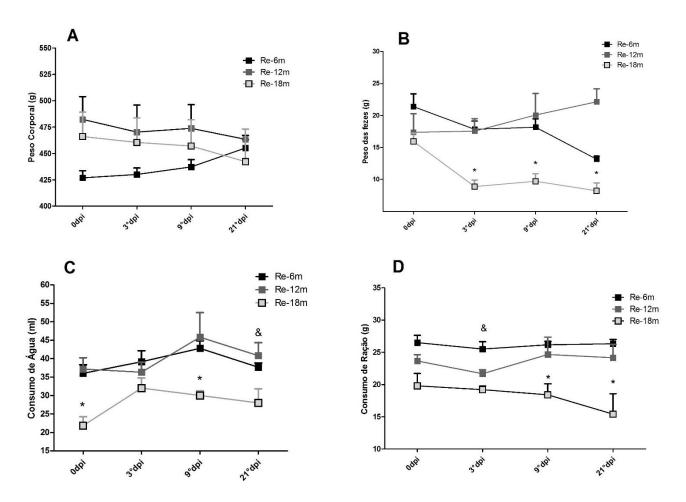


Figura 1- Parâmetros fisiológicos. A) Peso corporal; B) Peso das fezes; C) Consumo de água e D) Consumo de ração ao longo dos dias experimentais em ratos reinfectados aos 6 meses (Re-6m); aos 12 meses (Re-12m) e reinfectados aos 18 meses (Re-18m). Resultados apresentados como média ± erro padrão. \*= vs os demais grupos; &= vs grupo Re-18m; P<0,05.

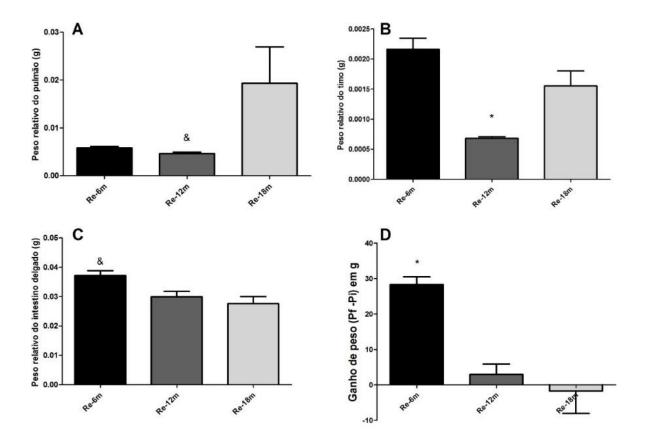


Figura 2 - Parâmetros morfométricos. Peso relativo do A) pulmão; B) timo e C) intestino delgado; D) Ganho de peso (Pf-Pi), no 21° dpi dos ratos de todos grupos experimentais. Resultados apresentados como média ± erro padrão. \*= vs demais grupos; &= vs grupo Re-18m; P<0,05.

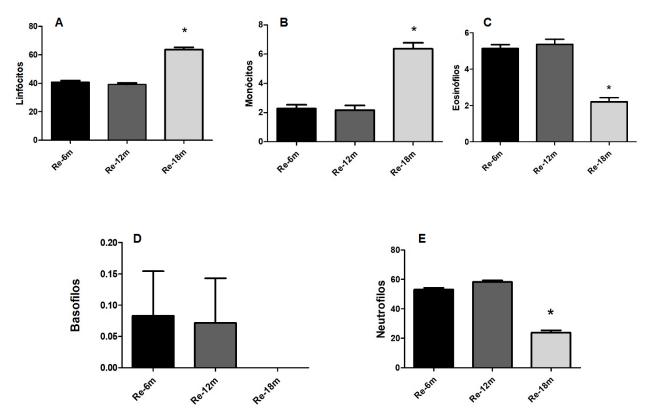


Figura 3: Contagem de células. A) Contagem de linfócitos; B) Contagem de monócitos; C) Contagem de eosinófilos; D) Contagem de Basófilos; E) Contagem de neutrófilos. Resultados apresentados como média ± erro padrão. \*vs demais grupos; P<0,05.

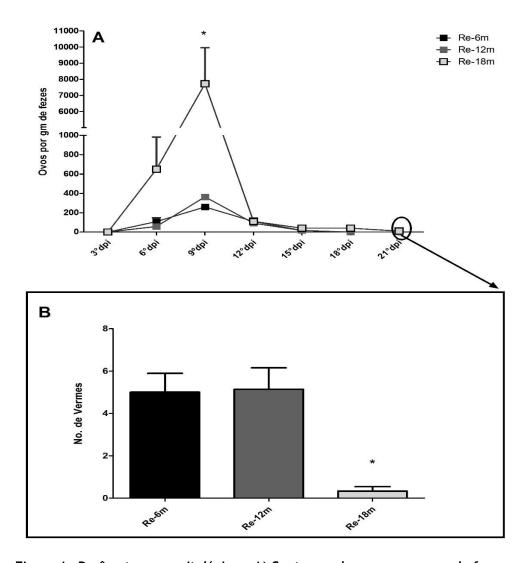


Figura 4 - Parâmetros parasitológicos. A) Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos três grupos durante o período experimental; B) Contagem do número de vermes adultos no intestino delgado no 21° dpi. Resultados apresentados como média ± erro padrão. \*vs demais grupos; P<0,05.

#### **ANEXOS**

#### ANEXO I - Normas da Revista

JHealth NPEPS Journal Health NPEPS	Journal Ficleo de Pesquisa e Extensão em Política, Pla		S
Capa > Sobre a revista > Submissões	SQUIS A ATUAL ANTERIORE S NOTÍCIA S  DMISSÕES	OPEN JOURNAL SYSTEM S  Ajuda do sistema	USUÁRIO Login
»Submissões Online »Diretrizes para Autores »Declaração de Direito Au »Política de Privacidade	<u>toral</u>		Senha  Lembrar usuário  Acesso
Submissões online			NOTIFICAÇÕES  Visualiza r Assina r

Já possui um login/senha de acesso à revista JOURNAL HEALTH NPEPS?

Não tem login/senha?

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso.

#### **Diretrizes para Autores**

# **INFORMAÇÕES GERAIS**

- Os artigos para publicação devem ser enviados *exclusivamente* à Journal Health NPEPS, não sendo permitida a apresentação simultânea a outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente.

- Os manuscritos poderão ser encaminhados em Português, Espanhol ou Inglês.
- Na Journal Health NPEPS podem ser publicados artigos escritos por especialistas de outras áreas, desde que o tema seja de interesse para a área de Ciências da Saúde ou Enfermagem.
- Tem-se a exigência de originalidade na aceitação de artigo à revista.
- A submissão dos artigos é on-line no site:
   http://periodicos.unemat.br/index.php/jhnpeps/
- Todos os autores deverão ser cadastrados na página da revista, informando <u>ORCID</u> e/ou <u>ResearchID</u> sendo que, uma vez submetido o artigo, a autoria não poderá ser modificada.
- A revista não cobra nenhuma taxa.
- O encaminhamento do manuscrito, anexos e o preenchimento de todos os dados, são de inteira responsabilidade dos autores que estão submetendo o manuscrito.
- Também são de exclusiva responsabilidade dos autores, as opiniões e conceitos emitidos nos manuscritos, bem como a exatidão e procedência das citações, não refletindo necessariamente a posição/opinião do Conselho Diretor e Conselho Editorial da Journal Health NPEPS.
- A Revista não assume a responsabilidade por equívocos gramaticais, e se dá, portanto, ao direito de solicitar a revisão de português aos autores.
- O(s) autor(es) têm total responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito.
- Quando do aceite do trabalho, o autor principal deverá indicar o papel desempenhado por cada autor do manuscrito.
- O processo editorial segue a regulamentação da Associação Brasileira de Editores científicos <u>ABEC</u> bem como o Código de Ética de Publicação Internacional e Orientação sobre Boa Prática em Publicações(<u>COPE</u>), de acordo com as recomendações da Elsevier.
- A revista apoia às políticas para registro de ensaios clínicos com inclusão de nome da base e número de registro do ensaio clínico.

- A revista adota os padrões para apresentação de resultados de pesquisa clínica indicados por <u>ICJME</u> e a rede <u>Equator</u>:
  - Ensaio clínico randomizado CONSORT (CheckList e Fluxograma)
  - Revisões sistemáticas e metanálises PRISMA (Checklist e Fluxograma)
  - Estudos observacionais em epidemiologia <u>STROBE</u>
  - Relatos de Casos CARE
  - Estudos qualitativos COREQ

#### **METADADOS**

Nome completo de TODOS os autores (no máximo 8 autores por artigo), por extenso, como os demais dados, resumo da biografia (afiliação completa e credenciais), categoria profissional, maior título universitário, nome do departamento e instituição de origem, endereço eletrônico, cidade, estado e país devem ser completados no momento da submissão e informados apenas nos metadados.

Portanto, no manuscrito submetido em "doc" deve conter apenas o trabalho científico e não apresentar os nomes ou qualquer outra forma que identifique os autores.

Para estudos multicêntricos com instituições internacionais, o número de autores pode ser superior a oito, todavia a submissão deve vir acompanhada de carta ao editor informando essa particularidade.

#### **AGRADECIMENTOS**

- Os agradecimentos por ajuda financeira, assistência técnica e outros auxílios para a execução do trabalho não deverão ser mencionados no momento da submissão.
- Quando do aceite do trabalho, os autores serão orientados sobre a forma de proceder para realizar a sua inserção.
- A informação referente ao financiamento da pesquisa deverá ser reportada com publicação de nome e número do projeto e agência financiadora da pesquisa.

## DOCUMENTAÇÃO OBRIGATÓRIA

- Os autores dos trabalhos encaminhados para avaliação deverão assinalar sua concordância com a "Declaração de Direito Autoral" do CREATIVE COMMONS, o qual consta no Passo 1 da Submissão. Ao clicar no ícone do CREATIVE COMMONS (This obra is licensed under a Creative Commons Atribuição-Uso Não-Comercial-Não a obras derivadas 3.0 Unported License) será aberta uma página que contém (em vários idiomas, inclusive o português) as condições da atribuição, uso não-comercial, vedada a criação de obras derivadas.
- Os manuscritos resultantes de estudos que envolvem *seres humanos* deverão indicar os procedimentos adotados para atender o constante da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e indicar o número do protocolo de aprovação do projeto de pesquisa e a data da aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Para os artigos oriundos de outros países os procedimentos adotados serão os constantes na Declaração de Helsink (1975 e revisada em 1983). A carta de aprovação do CEP (digitalizada e em pdf) deverá ser anexada no momento da submissão no Passo "4 Transferência de Documentos Suplementares".
- Conflitos de interesses podem surgir quando autores, revisores ou editores possuem interesses que não são completamente aparentes, mas que podem influenciar seus julgamentos sobre o que é publicado. O conflito de interesses pode ser de ordem pessoal, comercial, político, acadêmico ou financeiro. Quando os autores submetem um manuscrito, seja um artigo ou carta, eles são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos que possam influenciar seu trabalho.

#### PROCESSO DE JULGAMENTO DOS MANUSCRITOS

- Para publicação, além do atendimento às normas, serão considerados: atualidade, originalidade e relevância do tema, consistência científica e respeito às normas éticas.
- Os artigos enviados serão primeiramente analisados pela Comissão de Editoração em relação à adequação à linha editorial e às normas da revista, podendo, inclusive, apresentar sugestões aos autores para alterações que julgarem necessárias, por meio de um *checklist*. Nesse caso, o referido artigo será reavaliado. A decisão desta análise será comunicada aos autores. Posteriormente, a avaliação do artigo é realizada por dois consultores, membros do Conselho Editorial ou *Ad-Hoc*, convidados pela Comissão de Editoração, utilizando o sistema *Double blind peer review*, preservando a identidade dos

autores e consultores. Os pareceres são apreciados por essa comissão que emite o parecer final, ou no caso de divergência entre os pareceres, solicita um terceiro parecer.

- O Conselho Diretor assegura o anonimato dos autores no processo de avaliação por pares, bem como o anonimato dos avaliadores e sigilo quanto à participação, o que lhes garante liberdade para julgamento.
- A avaliação indicará três possibilidades:
- 1 Favorável (pontuação 10): o manuscrito é aceito para publicação sem nenhuma alteração ou com pequenas alterações, as quais podem ser feitas pela Editoria da Revista. O trabalho não necessitará retornar ao autor. As pequenas alterações devem estar indicadas no parecer.
- 2 Favorável, desde que atendidas as reformulações indicadas neste parecer e/ou anotadas no texto (pontuação de 5 a 9): a proposta de publicação deve ser revista pelo autor. As recomendações devem ser acompanhadas de sugestões detalhadas que orientem o autor sobre os elementos a serem observados para melhorar a apresentação do trabalho.
- 3 Desfavorável (pontuação de 0 a 4): o manuscrito NÃO deve ser aceito para publicação. Isto porque deve ser completamente reformulado de acordo com as justificativas apresentadas no parecer.
- Os pareceres dos avaliadores serão disponibilizados on-line para o autor responsável pela submissão que terá o *prazo de 15 (quinze) dias para atender as solicitações*. Caso contrário, o manuscrito será ARQUIVADO, após envio de comunicado para todos os autores, por entender-se que não houve interesse em atender a solicitação para ajustes. Porém, se houver interesse ainda em publicá-lo, o artigo deverá ser submetido novamente, sendo iniciado novo processo de julgamento por pares. Os autores deverão manter seus e-mails atualizados para receber todas as comunicações.
- O autor, identificando a necessidade de solicitar uma *errata*, deverá enviá-la à Revista no prazo máximo de 15 dias após a publicação do artigo, e ficará a critério da Revista a decisão sobre sua relevância e possível divulgação.

#### **CATEGORIAS DE MANUSCRITOS**

*Editorial*: de responsabilidade do Conselho Diretor da Revista, que poderá convidar autoridades para escrevê-lo. Limite máximo de cinco páginas.

*Original Article\Artigos originais*: são contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa científica, original, inédita e concluída. Limite máximo de 25 páginas.

Review article\Artigo de revisão: as revisões podem ser sistemáticas, integrativas ou narrativas. Um artigo de revisão compreende avaliação crítica da literatura sobre temas específicos. Deve incluir uma seção que descreva os métodos utilizados para localizar, selecionar, extrair e sintetizar os dados e conclusões. Limite máximo de 15 páginas.

Case Report\Relato de experiência: relatos de experiências acadêmicas, profissionais, assistenciais, de extensão, de pesquisa, entre outras, relevantes para a área da saúde. Limite máximo de 15 páginas.

Reflective Analysis\Ensaio Crítico-reflexivo: formulações discursivas de efeito teorizante com fundamentação sobre a situação global em que se encontra determinado assunto. Matéria de caráter opinativo ou análise de questões que possam contribuir para o aprofundamento de temas relacionados à área da saúde. Limite máximo de 15 páginas.

Note Preview\Nota prévia: notas prévias de pesquisa, contendo dados inéditos e relevantes para área da saúde. Espaço destinado à síntese de Dissertação ou Tese em processo final de elaboração. Deverá conter todas as etapas do estudo, seguindo as mesmas normas exigidas para artigos originais. Limite máximo de três páginas.

# **FORMATAÇÃO DO MANUSCRITO:**

Os textos devem ser digitados usando-se:

- Formato Microsoft Word (\*.doc);
- Papel tamanho A4 (210 x 297 mm), orientação retrato; Espaçamento 1,5 entre linhas em todo o texto;
- Margens inferior e laterais de 2cm e superior de 3cm.
- Fonte Trebuchet MS, tamanho 12;
- Manuscrito no idioma principal do autor (Português, Inglês ou Espanhol);

Divisão: TÍTULO (3 idiomas), RESUMO (3 idiomas), INTRODUÇÃO, MÉTODO, RESULTADOS E DISCUSSÃO, CONSIDERAÇÕES FINAIS, REFERÊNCIAS.

**TÍTULO do manuscrito:** inédito, conciso em até 15 palavras, porém informativo, excluindo localização geográfica da pesquisa e abreviações) nos idiomas português, inglês e espanhol.

- **Título de seção primária e resumo** maiúsculas e negrito. Ex.: TÍTULO; RESUMO; INTRODUÇÃO.
- Título de seção secundária (subtítulos) Primeira letra maiúscula e as demais em minúsculas e negritas. Ex: Princípios do cuidado em saúde (seção secundária).
- Não utilizar marcadores ao longo do texto.

**RESUMO:** Conciso, em até 200 palavras, elaborado em parágrafo único, acompanhado de sua versão em Português (**RESUMO**), *Inglês* (**ABSTRACT**) e *Espanhol* (**RESUMEN**), começando pelo mesmo idioma do trabalho. O resumo deve ser estruturado nos itens: objetivo, método, resultados, considerações finais ou conclusão (os títulos desses itens devem estar em negrito).

DESCRITORES: abaixo do resumo incluir 3 a 5 descritores segundo o índice dos Descritores em Ciências da Saúde - DeCS (<a href="http://decs.bvs.br">http://decs.bvs.br</a>) ou Medical Subject Headings - MESH (<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh</a>). Cada descritor utilizado será apresentado com a primeira letra maiúscula, sendo separados por ponto e vírgula (;).

Não usar os termos: Palavras-chave, Keywords e Palabras-clave.

**Usar:** Descritores, Descriptors e Descriptores, respectivamente em português, inglês e espanhol.

**INTRODUÇÃO:** deve ser breve, apresentar a questão norteadora, justificativa e objetivos coerentes com a proposta do estudo. Os objetivos devem ser incorporados no último parágrafo da introdução.

**MÉTODO:** indicar os métodos empregados, a população estudada, a fonte de dados e os critérios de seleção, os quais devem ser descritos de forma objetiva e completa. Inserir o número do protocolo e data de aprovação do projeto de pesquisa no Comitê de Ética em Pesquisa. Deve também referir que a pesquisa foi conduzida de acordo com os padrões éticos exigidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: os resultados devem ser descritos em sequência lógica. Quando apresentar tabelas e ilustrações, o texto deve complementar e não repetir o que está descrito nestas. A discussão, que pode ser redigida junto com os resultados, deve conter comparação dos resultados com a literatura e a interpretação dos autores. Quanto à literatura, sugere-se a utilização de referências majoritariamente de artigos e atualizadas (dos últimos cinco anos) e sugere-se, ainda, a inclusão de artigos internacionais e quando possível, utilizar artigos publicados na Journal Health NPEPS.

**CONCLUSÃO OU CONSIDERAÇÕES FINAIS:** as conclusões ou considerações finais devem destacar os achados mais importantes, comentar as limitações e implicações para novas pesquisas.

<u>Depoimentos</u>: em parágrafo individual, **com recuo de 4 cm, letra tamanho 10,** espaço simples entre linhas e **itálico para o texto**, com o código que representar cada depoente entre parênteses e após o ponto, sem itálico. As intervenções dos autores ao que foi dito pelos participantes do estudo devem ser apresentadas entre colchetes.

**Ilustrações:** poderão ser incluídas até cinco (gráficos, quadros, tabelas e figuras), em preto e branco ou escala de cinza, conforme as especificações a seguir:

• Tabelas - devem ser elaboradas para reprodução direta pelo editor de layout, inseridas no texto, com a primeira letra da legenda em maiúscula descrita na parte superior, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem em que foram citadas no texto, conteúdo em fonte 10 com a primeira letra em maiúscula, apresentadas em tamanho máximo de 14 x 21 cm (padrão da revista) e comprimento não deve exceder 55 linhas, incluindo título. Não usar linhas horizontais ou verticais internas. Empregar em cada coluna um título curto ou abreviado. Colocar material explicativo em notas

abaixo da tabela, não no título. Explicar em notas todas as abreviaturas não padronizadas usadas em cada tabela. Em caso de usar dados de outra fonte, publicada ou não, obter permissão e indicar a fonte por completo.

- Figuras: devem preferencialmente ser submetidas em alta resolução no formato JPG,
   JPEG ou TIFF. As figuras devem ser colocadas em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (ex.: Figura 1; Figura 2). Certifique-se que as mesmas têm uma resolução mínima de 300dpi.
- Fotografias: devem ser enviadas com boa resolução (mínimo de 300dpi) no formato JPG, JPEG ou TIFF, preferencialmente, preparadas utilizando o Adobe Photoshop.
- Gráficos: criados usando Microsoft Word ou Excel, devem ser salvos com a extensão original (.doc ou .xls). Eles não devem ser copiados ou colados de um programa para o outro.
- Mapas e Ilustrações: devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os softwares CorelDraw ou Illustrator em alta resolução, e suas dimensões não devem ter mais que 21,5 x 28,0cm.
- Imagens: produzidas em software estatístico devem ser convertidas para o formato
   Excel ou PowerPoint. Caso não seja possível, converter o arquivo para o formato JPG,
   JPEG ou TIFF com resolução de 300dpi, e enviar juntamente com o arquivo no formato
   original.
- Símbolos, abreviaturas e siglas: usar somente abreviaturas padronizadas. A não ser no caso das unidades de medida padrão, todos os termos abreviados devem ser escritos por extenso, seguidos de sua abreviatura entre parênteses, na primeira vez que aparecem no texto, mesmo que já tenha sido informado no resumo.
- Deve ser evitada a apresentação de apêndices (elaborados pelos autores) e anexos.

#### **REFERÊNCIAS**

A Journal Health NPEPS adota os "Requisitos Uniformes para Manuscritos Submetidos a Revistas Biomédicas" - Estilo Vancouver, publicado pelo Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. O estilo Vancouver está disponível no site: <a href="https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html">https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html</a> ou http://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html (versão traduzida em português).

Devem ser identificadas no texto por números arábicos sobrescritos, sem espaços da última palavra. Ao fazer a citação sequencial de autores, separe-as por um hífen, devendo ser indicados o primeiro e o último, **Ex.:** ...condições de saúde da população<sup>1-4</sup>. Quando intercalados, os números deverão ser separados por vírgula, **Ex.:** ...condições de saúde da população <sup>1-4,5</sup>.

Na lista de referências, as referências devem ser *numeradas consecutivamente*, conforme a ordem que forem mencionadas pela primeira vez no texto. Portanto, devem ser numeradas e normalizadas de acordo com o *Estilo Vancouver*.

**EX**: 1. Costa MCS, Rossi LA, Lopes LM, Cioffi CL. Significados de qualidade de vida: análise interpretativa baseada na experiência de pessoas em processo de reabilitação de queimaduras. Rev Latinoam Enferm. 2008;16(2):252-9.

Quando o documento possui de um até seis autores, citar todos os autores, separados por vírgula. Quando possui mais de seis autores, citar todos os seis primeiros autores seguidos da expressão latina "et al".

Os *títulos de periódicos* devem ser referidos abreviados, de acordo com *o Index Medicus*: <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals</a>. Para abreviatura dos títulos de periódicos nacionais e latinoamericanos, consultar o site: <a href="http://portal.revistas.bvs.br">http://portal.revistas.bvs.br</a> eliminando os pontos da abreviatura, com exceção do último ponto para separar do ano.

- Com relação à *abreviatura dos meses dos periódicos* - em inglês e alemão, abreviase os meses iniciando por maiúsculas; em português, espanhol, francês e italiano, em minúsculas. Ambos serão sem ponto como recomenda o Estilo *Vancouver*.

# **EXEMPLOS:**

## 1 Artigo Padrão

Costa MCS, Rossi LA, Lopes LM, Cioffi CL. Significados de qualidade de vida: análise interpretativa baseada na experiência de pessoas em processo de reabilitação de queimaduras. Rev Latinoam Enferm. 2008;16(2):252-9.

#### 2 Com mais de seis autores

Brunello MEF, Ponce MAZ, Assis EG, Andrade RLP, Scatena LM, Palha PF, et al. O vínculo na atenção à saúde: revisão sistematizada na literatura, Brasil (1998-2007). Acta Paul enferm. 2010;23(1):131-5.

### 3 Instituição como autor

Center for Disease Control. Protection against viral hepatitis: recomendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). MMWR. 1990;39(RR-21):1-27.

### 4 Múltiplas instituições como autor

Guidelines of the American College of Cardiology; American Heart Association 2007 for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction. Part VII. Kardiologiia. 2008;48(10):74-96. Russian.

#### 5 Artigo de autoria pessoal e organizacional

Franks PW, Jablonski KA, Delahanty LM, McAteer JB, Kahn SE, Knowler WC. Diabetes Prevention Program Research Group. Assessing gene-treatment interactions at the FTO and INSIG2 loci on obesity-related traits in the Diabetes Prevention Program. Diabetologia. 2008;51(12):2214-23. Epub 2008 Oct 7.

## 6 Sem indicação de autoria

Best practice for managing patients' postoperative pain. Nurs Times. 2005;101(11):34-7.

# 7 Artigo no qual o nome do autor possui designação familiar (Jr, 2nd, 3rd, 4th...)

King JT Jr, Horowitz MB, Kassam AB, Yonas H, Roberts MS. The short form-12 and the measurement of health status in patients with cerebral aneurysms: performance, validity, and reliability. J Neurosurg. 2005;102(3):489-94.

Infram JJ 3rd. Speaking of good health. Tenn Med. 2005 Feb;98(2):53.

Obs.: Se brasileiros, o grau de parentesco deve ser acrescentado logo após o sobrenome. Ex.: Amato Neto V.

# 8 Artigo com indicação de subtítulo

Vargas, D; Oliveira, MAF de; Luís, MAV. Atendimento ao alcoolista em serviços de atenção primária à saúde: percepções e condutas do enfermeiro. Acta Paul. Enferm. 2010;23(1):73-79.

# 9 Volume com suplemento

Travassos C, Martins M. Uma revisão sobre os conceitos de acesso e utilização de serviços de saúde. Cad Saúde Pública. 2004;20 Supl 2:190-8.

#### 10 Fascículo com suplemento

Glauser TA. Integrating clinical trial data into clinical practice. Neurology. 2002;58(12 Suppl 7):S6-12.

## 11 Volume em parte

Jiang Y, Jiang J, Xiong J, Cao J, Li N, Li G, et al. Retraction: Homocysteine-induced extracellular superoxide dismutase and its epigenetic mechanisms in monocytes. J Exp Biol. 2008;211(Pt 23):3764.

# 12 Fascículo em parte

Rilling WS, Drooz A. Multidisciplinary management of hepatocellular carcinoma. J Vasc Interv Radiol. 2002;13(9 Pt 2):S25963.

#### 13 Fascículo sem volume

Ribeiro LS. Uma visão sobre o tratamento dos doentes no sistema público de saúde. Rev USP. 1999;(43):55-9.

#### 14 Sem volume e sem fascículo

Outreach: bringing HIV-positive individuals into care. HRSA Careaction. 2002 Jun:1-6.

# 15 Artigo com categoria indicada (revisão, abstract etc.)

Silva EP, Sudigursky D. Conceptions about palliative care: literature review. Concepciones sobre cuidados paliativos: revisión bibliográfica [revisão]. Acta paul enferm. 2008;21(3):504-8.

## 16 Artigo com paginação indicada por algarismos romanos

Stanhope M, Turner LM, Riley P. Vulnerable populations [preface]. Nurs Clin North Am. 2008;43(3):xiii-xvi.

## 17 Artigo contendo retratação

Duncan CP, Dealey C. Patients' feelings about hand washing, MRSA status and patient information. Br J Nurs. 2007;16(1):348. Retratação de: Bailey A. Br J Nurs. 2007;16(15):915.

### 18 Artigos com erratas publicadas

Pereira EG, Soares CB, Campos SMS. Proposal to construct the operational base of the educative work process in collective health. Rev Latinoam Enferm. 2007 nov-dez;15(6):1072-9. Errata en: Rev Latinoam Enferm. 2008;16(1):163.

### 19 Artigo publicado eletronicamente antes da versão impressa (ahead of print)

Ribeiro AM, Guimarães MJ, Lima MC, Sarinho SW, Coutinho SB. Fatores de risco para mortalidade neonatal em crianças com baixo peso ao nascer. Rev Saúde Pública. 2009;43(1). Epub 13 fev 2009.

### 20 Artigo provido de DOI

Barra DCC, Dal Sasso GTM. Tecnologia móvel à beira do leito: processo de enfermagem informatizado em terapia intensiva a partir da cipe 1.0®. Texto Contexto Enferm. [internet] 2010 Mar [acesso em 2010 Jul 1];19(1): 54-63. Disponível em: <a href="http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0104-">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0104-</a>

07072010000100006&lng=pt doi: 10.1590/S010407072010000100006.

## 21 Artigo no prelo (In press)

Villa TCS, Ruffino-Netto A. Questionário para avaliação de desempenho de serviços de atenção básica no controle da tuberculose no Brasil. J Bras Pneumol. No prelo 2009. J Bras Pneumol.

### Livros e outras monografias

#### 1 Indivíduo como autor

Waldow VR. Cuidar: expressão humanizadora da enfermagem. Petrópolis (RJ): Vozes; 2006.

### 2 Organizador, editor, coordenador como autor

Cianciarullo TI, Gualda DMR, Melleiro MM, Anabuki MH, organizadoras. Sistema de assistência de enfermagem: evolução e tendências. 3ª ed. São Paulo: Ícone; 2005.

## 3 Instituição como autor e publicador

Ministério da Saúde (BR). Promoção da saúde: Carta de Otawa, Declaração de Adelaide, Declaração de Sunsvall, Declaração de Jacarta, Declaração de Bogotá. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2001.

#### 4 Capítulo de livro

Batista LE. Entre o biológico e o social: homens, masculinidade e saúde reprodutiva. In: Goldenberg P, Marsiglia RMG, Gomes MHA, organizadoras. O clássico e o novo: tendências, objetos e abordagens em ciências sociais e saúde. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2003. p. 209-22.

#### 5 Capítulo de livro, cujo autor é o mesmo da obra

Moreira A, Oguisso T. Profissionalização da enfermagem brasileira. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. Gênese da profissionalização da enfermagem; p. 23-31.

## 6 Livro com indicação de série

Kleinman A. Patients and healers in the context of the culture: an exploration of the borderland between anthropology, medicine and psychiatry. Berkeley: University of California Press; 1980. (Comparative studies of health systems and medical care; 3).

### 7 Livro sem autor/editor responsável

HIV/AIDs resources: a nationwide directory. 10th ed. Longmont (CO): Guides for Living; c2004. 792 p.

#### 8 Livro com edição

Modlin IM, Sachs G. Acid related diseases: biology and treatment. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2004. 522 p.

## 9 Livro com data de publicação/editora desconhecida e/ou estimada

Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Recursos Humanos da Secretaria Geral. Capacitação de enfermeiros em saúde pública para o Sistema Único de Saúde: controle das doenças transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde; [199?]. 96 p.

Hoobler S. Adventures in medicine: one doctor's life amid the great discoveries of 1940-1990. [place unknown]: S.W. Hoobler; 1991. 109 p.

#### 10 Livro de uma série com indicação de número

Malvárez, SM, Castrillón Agudelo, MC. Panorama de la fuerza de trabajo en enfermería en América Latina. Washington (DC): Organización Panamericana de la Salud; 2005. (OPS. Serie Desarrollo de Recursos Humanos HSR, 39).

# 11 Livro publicado também em um periódico

Cardena E, Croyle K, editors. Acute reactions to trauma and psychotherapy: a multidisciplinary and international perspective. Binghamton (NY): Haworth Medical Press; 2005. 130 p. (Journal of Trauma & Dissociation; vol. 6, no. 2).

#### 12 Dicionários e obras de referência similares

Souza LCA, editor. Dicionário de administração de medicamentos na enfermagem 2005/2006: AME. 4ª ed. Rio de Janeiro: EPUB; 2004. Metadona; p. 556-7.

### 13 Trabalho apresentado em evento

Peduzzi M. Laços, compromissos e contradições existentes nas relações de trabalho na enfermagem. In: Anais do 53° Congresso Brasileiro de Enfermagem; 2001 out. 9-14; Curitiba. Curitiba: ABEn-Seção-PR; 2002. p. 167-82.

### 14 Trabalho apresentado em evento e publicado em periódico

Imperiale AR. Obesidade, carne, gordura saturada e sedentarismo na carcinogênese do câncer do cólon. Il Congresso Brasileiro de Nutrição e Câncer - GANEPÃO; 2006 maio 24-27; São Paulo, BR. Anais. (Rev bras med. 2006;63(Ed esp):8-9).

#### 15 Dissertação e Tese

Nóbrega MFB. Processo de Trabalho em Enfermagem na Dimensão do Gerenciamento do Cuidado em um Hospital Público de Ensino [dissertação]. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará; 2006. 161 p.

Bernardino E. Mudança do Modelo Gerencial em um Hospital de Ensino: a reconstrução da prática de enfermagem [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem; 2007. 178 p.

#### Obs.:

Para Mestrado [dissertação], Tese de doutorado [tese], Tese de livre-docência [tese de livre-docência], Tese PhD [PhD Thesis], para Especialização e Trabalho de Conclusão de Curso [monografia]. Ao final da referência podem ser acrescentados o grau e a área do conhecimento. Ex.: Especialização em Gestão de Pessoas.

### **Documentos legais**

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 399/GM, de 22 de fevereiro de 2006. Divulga o pacto pela saúde 2006 - consolidação do SUS e aprova as diretrizes operacionais do referido pacto. Diário Oficial da União, Brasília, 23 fev. 2006. Seção 1, p. 43-51.

Ministério da Educação (BR). Conselho Nacional de Educação, Câmara de Educação Básica. Parecer N°16, de 5 de outubro de 1999: Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação Profissional de Nível Técnico. [internet] 1999 [acesso em 2006 Mar 26]. Disponível em:http://www.mec.gov.br/cne/parecer.shtm.

#### Material eletrônico

## 1 Artigo de revista em formato eletrônico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis. [internet] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];(1): [24 screens]. Available from: http://www.cdc.gov/incidod/EID/eid.htm

#### 2 Matéria publicada em site web

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo 2002. Rio de Janeiro; 2002 [acesso em 2006 jun. 12]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br.

### 3 CD-ROM e DVD

Bradshaw S. The Millenium goals: dream or reality? [DVD]. London: TVE; C2004. 1 DVD: 27 min., sound, color, 4 3/4 in.

# **ORIENTAÇÕES GERAIS:**

\*As expressões contidas nas referências que determinam a edição e o tipo de material devem ser registradas na língua do artigo original. Por exemplo: 2ª ed., 2nd ed., [dissertation], [review].

\*Para os autores brasileiros, o acesso ao documento eletrônico é registrado com a expressão entre colchetes [acesso em...], seguida da data de acesso em formato ano, mês e dia e o endereço eletrônico antecedido de "Disponível em:"

\* Para os autores estrangeiros, indica-se a seguinte estrutura [cited 2009 Feb 13] e o endereço eletrônico antecedido da expressão "Available from:"

\*As datas são sempre no formato ano, mês e dia, conforme o Estilo Vancouver.

#### CATEGORIES OF MANUSCRIPT

**Editorial:** the responsibility of the Board of Directors of the Journal, which may invite authorities to write it. Maximum limit of 5 pages.

**Original Article:** contributions intended to disseminate scientific research results, original, unpublished and completed. Maximum limit of 25 pages.

**Review Article:** reviews can be Systematic, Integrative, or Narrative. A review article includes critical literature review on specific topics. It should include a section describing the methods used to locate, select, extract, and synthesize data and conclusions. Maximum limit of 15 pages.

**Case Report:** reports of academic, professional, assistance, extension, research, among others, relevant to the health area. Maximum limit of 15 pages.

Reflective Analysis: discursive formulations of theorizing effect with foundation on the global situation in which a certain subject is found. Matter of opinion or analysis of issues that may contribute to the deepening of topics related to health. Maximum limit of 15 pages.

**Note Preview:** previous research notes, containing previously unpublished data relevant to health. Space destined to the synthesis of Dissertation or Thesis in final

elaboration process. It should contain all steps of the study, following the same standards required for original articles. Maximum limit of three pages.

# **FORMATING THE MANUSCRIPT:**

Texts must be typed using:

- Microsoft Word format (\* .doc);
- A4 size paper (210 x 297 mm), portrait orientation;
- 1.5 spacing between lines throughout the text;
- Lower and lateral margins of 2cm and higher of 3cm.
- Trebuchet MS Fountain, size 12;
- Number page in the lower right corner;
- Numbered and restarted lines to each page;
- Manuscript in the main language of the author (Portuguese, English or Spanish);

Division: TITLE (3 languages), SUMMARY (3 languages), INTRODUCTION, METHOD, RESULTS AND DISCUSSION, FINAL CONSIDERATIONS, REFERENCES.

**TITLE of the manuscript**: unpublished, concise in up to 15 words, but informative, excluding geographical location of the research and abbreviations) in the Portuguese, English and Spanish languages.

- Primary section title and abstract uppercase and bold. Ex .: TITLE; SUMMARY;
   INTRODUCTION.
- Secondary section title (subtitle) First capital letter and the other lowercase and bold. Ex: Principles of health care (secondary section).
- Do not use markers throughout the text.

ABSTRACT: Concise, in up to 200 words, prepared in a single paragraph, accompanied by its Portuguese version (ABSTRACT), English (ABSTRACT) and Spanish (ABSTRACT), beginning with the same language of work. The summary should be

structured in the items: objective, method, results, final considerations or conclusions (the titles of these items must be in bold).

of Descriptors in Health Sciences - DeCS (<a href="http://decs.bvs.br">http://decs.bvs.br</a>) or Medical Subject Headings - MESH (<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh</a>). Each descriptor used will be presented with the first capital letter, separated by a semicolon (;).

Do not use the term: Keywords.

**Use:** Descriptors, Descritores and Descriptores, respectively in English, Portuguese and Spanish.

**INTRODUCTION**: It should be brief, present the guiding question, justification and objectives consistent with the study proposal. The objectives should be incorporated in the last paragraph of the introduction.

**METHOD:** Indicate the methods used, the population studied, the data source and the selection criteria, which should be described in an objective and complete manner. Enter the protocol number and approval date of the research project in the Research Ethics Committee. It should also be noted that the research was conducted in accordance with the ethical standards required.

RESULTS AND DISCUSSION: the results should be described in logical sequence. When presenting tables and illustrations, the text should complement and not repeat what is described in these. The discussion, which can be written together with the results, should contain a comparison of the results with the literature and the authors' interpretation. As for the literature, it is suggested to use references that are mostly articles and up-to-date (from the last five years) and it is also suggested to include international articles and when possible use articles published in Journal Health NPEPS.

**CONCLUSION OR FINAL CONSIDERATIONS:** conclusions or final considerations should highlight the most important findings, comment on the limitations and implications for further research.

Deposits: in individual paragraph, with 4 cm indentation, letter size 10 and simple space between lines) use italic for the text, with the code that represents each deponent in parentheses and after the point, without italics. The authors' interventions to what was said by the study participants should be presented in brackets.

**Illustrations:** up to five (graphs, tables, tables and figures) may be included in black and white or gray scale, according to the following specifications:

- Tables must be prepared for direct reproduction by the layout editor, inserted in the text, with the first letter of the caption in uppercase, numbered consecutively with Arabic numerals in the order they were cited in the text, font content 10 with The first letter in upper case, presented in a maximum size of 14 x 21 cm (journal standard) and length should not exceed 55 lines, including title. Do not use horizontal or vertical internal lines. Use a short or abbreviated title in each column. Put explanatory material in notes below the table, not in the title. Explain in notes all nonstandard abbreviations used in each table. In case of using data from another source, published or not, obtain permission and indicate the source completely.
- **Figures:** should preferably be submitted in high resolution in **JPG**, **JPEG or TIFF format**. Figures should be placed in separate files, named only with the number of the figures (eg Figure 1, Figure 2). Make sure they have a minimum resolution of 300dpi.
- Photographs: must be sent with good resolution (minimum of 300dpi) in JPG, JPEG or TIFF format, preferably prepared using Adobe Photoshop.
- **Graphics**: Created using Microsoft Word or Excel, must be saved with the original extension (.doc or .xls). They should not be copied or pasted from one program to another.
- Maps and Illustrations: must be professionally vectored (drawn) using CorelDraw or Illustrator software in high resolution, and its dimensions should be no more than 21.5 x 28.0cm.
- Images: produced in statistical software must be converted to Excel or PowerPoint format. If it is not possible, convert the file to JPG, JPEG or TIFF format with resolution of 300dpi, and send together with the file in the original format.

- **Symbols, abbreviations and abbreviations:** use only standard abbreviations. Except for standard units of measure, all abbreviated terms must be written in full, followed by their abbreviation in parentheses, the first time they appear in the text, even if you have already been informed in the abstract.
- Appendices (drawn up by the authors) and annexes should be avoided.

#### REFERENCES

Journal Health NPEPS adopts the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" - Vancouver Style, published by the International Committee of Medical Journal Editors. The Vancouver style is available at: <a href="https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html">https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html</a> or <a href="https://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html">http://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html</a> (translated version in Portuguese).

They should be identified in the text by superscript Arabic numerals, without spaces of the last word. In sequential citation of authors, separate them by a hyphen, and the first and last should be indicated, **example**: ... health conditions of the population<sup>1-4</sup>. When interleaved, the numbers should be separated by commas, **example**: ...health conditions of the population<sup>1-4,5</sup>.

In the list of references, references must be **numbered consecutively** in the order they are first mentioned in the text. Therefore, they should be numbered and standardized according to **the Vancouver Style**.

**Example:** 1. Costa MCS, Rossi LA, Lopes LM, Cioffi CL. Quality of life meanings: interpretative analysis based on the experience of people in the process of burn rehabilitation. Rev Latinoam Enferm. 2008; 16 (2): 252-9.

When the document has one to six authors, cite all authors, separated by commas. When you have more than six authors, cite all six first authors followed by the Latin expression "et al".

Journal titles should be abbreviated, according to the Index Medicus: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals. For abbreviated titles of national and Latin American periodicals, consult the site: http://portal.revistas.bvs.br eliminating the abbreviation points, with the exception of the last point to separate from the year.

- In relation to the abbreviation of the months of the periodicals - in English and German, the months beginning with caps are abbreviated; In Portuguese, Spanish, French and Italian, in lower case. Both will be pointless as recommended by the Vancouver Style.

### CATEGORÍAS DE MANUSCRITOS

*Editorial*: la responsabilidad del Consejo Editorial, que pueden invitar a las autoridades para escribirlo. Límite máximo de 5 páginas.

*Artículo original:* Son contribuciones para difundir los resultados de investigaciones científicas, originales, inéditas y completas. **Límite máximo de 25** páginas.

Artículo de revisión: las revisiones pueden ser Sistemáticas, Integrativas o Narrativas. Un artículo de revisión incluye una evaluación crítica de la literatura sobre temas específicos. Debe incluir una sección que describe los métodos utilizados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar los datos y conclusiones. Límite máximo de 15 páginas.

*Reporte de caso*: informes de carácter académico, profesional, salud, extensión, investigación, entre otros, relativos al área de la salud. **Límite máximo de 15 páginas**.

Artículo de reflexión: formulaciones discursivas con el razonamiento efecto teorizar sobre la situación general en el que se da materia. carácter dogmático de la materia o el análisis de las cuestiones que pueden contribuir a la profundización de los temas relacionados con la salud. Límite máximo de 15 páginas.

**Nota prévia:** notas de investigación anteriores que contienen datos no publicados relevantes para la salud. Espacio para la síntesis de la tesis en el proceso de redacción final. Debe contener todas las etapas del estudio, siguiendo las mismas pautas de los artículos originales. **Límite máximo de 3 páginas.** 

# FORMATO DEL ARTÍCULO:

Los artículos deben ser escritos usando:

- Formato Microsoft Word (\*.doc);
- Tamaño del papel A4 (210 x 297 mm), orientação retrato;
- El espacio entre líneas 1,5 en todo el texto;
- Márgenes inferiores y laterales de 2cm e mayor de 3cm.
- Fuente Trebuchet MS, tamaño 12;
- Número de página en la esquina inferior derecha;
- Líneas numeradas y reiniciar cada página;
- Artículo en la idioma principal del autor (Espanhol, Inglês ou Português);

División: TÍTULO (3 idiomas), RESUMO (3 idiomas), INTRODUCCIÓN, MÉTODO, RESULTADOS Y DISCUSIÓN, CONSIDERACIONES FINALES, REFERÊNCIAS.

**TÍTULO del artículo:** Concisa hasta 15 palabras, pero informativo, con exclusión de la ubicación geográfica de la investigación y abreviaturas) en Portugués, Inglés y Español.

- **Título de sección primaria y resumen** mayúscula y en negrita. Ex.: TÍTULO; RESUMEN; INTRODUCCIÓN.
- Título de sección secundaria (subtítulos)- Primera letra en mayúsculas y las minúsculas descanso y negritas. Ex: Princípios do cuidado em saúde (sección secundaria).
- No utilice marcadores en todo el texto.

**RESUMEN:** Concisa, hasta 200 palabras, preparadas en un solo párrafo, acompañado de su versión en portugués (RESUMO), inglés (ABSTRACT) y español (RESUMEN), empezando por el mismo idioma de trabajo. El resumen debe ser estructurado de objetos: propósito, método, resultados, conclusiones o consideraciones finales (los títulos de estos artículos deben estar en negrita).

DESCRIPTORES: a continuación el resumen incluirá 3 a 5 descriptores de acuerdo con el índice de las Ciencias de la Salud DeCS (<a href="http://decs.bvs.br">http://decs.bvs.br</a>) o Medical Subject Headings - MESH (<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh</a>). Cada descriptor utilizado será presentado con la primera letra en mayúscula, estando separados por un punto y coma (;).

No utilice los términos: Palavras-chave, Keywords e Palabras-clave.

**Uso:** Descriptores, Descriptors e Descritores, respectivamente em espanhol, inglés e português.

**INTRODUCCIÓN:** debe ser breve, presentando el problema de investigación, los fundamentos y objetivos coherentes con la propuesta de estudio. Los objetivos deben ser incorporados en el último párrafo de la introducción.

**MÉTODO:** indican los métodos empleados, la población estudiada, la fuente de datos y los criterios de selección, que deben ser descritas de forma objetiva y completamente. Introduce el número de protocolo y la fecha de aprobación del proyecto de investigación en el Comité de Ética de la Investigación. También hay que señalar que la encuesta se realizó de acuerdo con las normas éticas requeridas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: los resultados deben ser descritos en una secuencia lógica. En la presentación de tablas e ilustraciones, el texto debe complementar y no repetir lo que se describe en los mismos. La discusión, que puede escribirse junto con los resultados debe contener la comparación de los resultados con la literatura y la interpretación de los autores. En cuanto a la literatura, se sugiere el uso de referencias en su mayoría artículos y actualizado (los últimos cinco años) y se sugiere también para incluir los documentos internacionales.

**CONCLUSIÓN O CONSIDERACIONES FINALES:** la conclusión o consideraciones finales deben destacar los hallazgos más importantes, revise las limitaciones e implicaciones para futuras investigaciones.

Testimonios: en el apartado individual, con retiro de 4 cm, tamaño de fuente 10, interlineado sencillo mediante itálico al texto con el código que representan a cada declarante paréntesis después del punto, sin itálico. Las intervenciones de los autores de lo que se ha dicho por los participantes deben tener entre paréntesis.

**Ilustrações:** Se pueden incluir hasta cinco (gráficos, tablas y figuras) en la escala blanco y negro o gris, de acuerdo con las siguientes especificaciones::

- Tablas Deben estar preparados para la reproducción directa por parte del editor de diseño, insertada en el texto, con la primera letra leyenda capitalizado se describe en la parte superior, numeradas consecutivamente con números arábigos en el orden en que se mencionan en el texto, la fuente de contenidos 10 con la primera letra capitalizar presentado en el tamaño máximo de 14 x 21 cm (estándar revisada) y longitud no debe exceder de 55 líneas, incluyendo título. No use líneas horizontales o verticales en el interior. Emplear en cada columna un título corto o abreviado. Coloque el material explicativo en notas por debajo de la mesa, no en el título. Explicar en las notas de todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada mesa. En caso de utilizar otras fuentes de datos, publicados o no, obtener el permiso e indicar la fuente por completo.
- **Figuras:** Se presentarán preferentemente en alta resolución **JPG, JPEG o TIFF.** Las figuras deben ser colocados en archivos separados, identificado únicamente con el número de cifras (por ejemplo:. Figura 1, Figura 2). Asegúrese de que tienen una resolución mínima de 300 ppp.
- Fotos: Deben enviarse con buena resolution (mínimo 300 dpi) acerca de a JPG, JPEG, TIFF, preferiblemente preparado usando Adobe Photoshop.
- **Gráficos:** crean utilizando Microsoft Word o Excel se deben guardar con la extensión original (.doc o .xls). No se deben copiar o pegar de un programa a otro.

- Mapas e ilustraciones: debe ser vectorizado (dibujado) profesionalmente utilizando el software CorelDraw o Illustrator para alta resolución, y sus dimensiones no debe haber más de 21,5 x 28,0cm.
- Imágenes: producidos en el software estadístico deben ser convertidos a formato Excel o PowerPoint. Si no se puede convertir el archivo en formato JPG, JPEG o TIFF con una resolución de 300 ppp, y enviar junto con el archivo en su formato original.
- **Símbolos, abreviaturas y acrónimos**: Utilice únicamente abreviaturas ordinarias. Excepto en el caso de medidas estándar, todas las abreviaturas deben escribirse en su totalidad, seguido por su sigla entre paréntesis la primera vez que aparecen en el texto, incluso si ya se ha informado en el resumen.
  - Se debe evitar dos apéndices (elaborados por los autores) y anexos.

#### **REFERÊNCIAS**

El Diario de la Salud NPEPS adopta los "Requisitos de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas" - Estilo Vancouver, publicado por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas. El estilo de Vancouver está disponible en: <a href="https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html">https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\_requirements.html</a> o <a href="https://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html">http://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html</a> (versión traducida en portugués).

Ellos deben ser identificados en el texto con números arábigos en superíndice, sin los últimos espacios de palabra. Haciendo autores de citas secuenciales, separarlos por un guión, se debe dar la primera y última, **Ej.:** ...condições de saúde da população<sup>1,4</sup>. Cuando se combina, los números deben estar separados por comas, **Ej.:** ...condições de saúde da população<sup>1-4,5</sup>.

En la lista de referencias, las referencias deben ser **numeradas consecutivamente** en el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. Por lo tanto, deben ser numeradas y normalizado de acuerdo con el **estilo Vancouver**.

**Ejemplo**: 1. Costa MCS, Rossi LA, Lopes LM, Cioffi CL. Significados de qualidade de vida: análise interpretativa baseada na experiência de pessoas em processo de reabilitação de queimaduras. Rev Latinoam Enferm. 2008;16(2):252-9.

Cuando el documento tiene de uno a seis autores, cite todos los autores, separados por comas. Cuando tiene más de seis autores, citar todos los seis primeros autores seguidos de la expresión latina "et al".

Los títulos de las revistas deben abreviarse dijo, de acuerdo con el Index Medicus: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez? db=journals. Para abreviar los títulos de revistas nacionales y latinoamericanos, visite el sitio web: http://portal.revistas.bvs.br eliminando puntos de abreviación, a excepción del último punto para separar el año.

- En cuanto a los meses de abreviación de revistas - en Inglés y alemán, los meses abreviados que comienzan con las letras mayúsculas; en portugués, español, francés e italiano, en minúsculas. Ambos estarán sin punto según lo recomendado por el estilo Vancouver.

### 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.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao editor".

The contribution is original and unpublished, and is not being evaluated for publication by another journal; Otherwise, it should be justified in "Comments to the editor".

La contribución es original e inédita, y no está siendo evaluado para su publicación en otra revista; de lo contrario, debe estar justificada en "Comentarios al editor."

2. O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.

The submission file is in Microsoft Word, OpenOffice or RTF format.

El archivo de presentación es en Microsoft Word, OpenOffice o RTF.

3. URLs para as referências foram informadas quando possível.

URLs for referrals were informed when possible.

URL de las referencias han sido posibles.

4. O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 12-pontos; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL); as figuras e tabelas estão inseridas no texto, não no final do documento na forma de anexos.

The text is in simple space; Uses a 12-point font; Uses italic instead of underlining (except URL addresses); The figures and tables are inserted in the text, not at the end of the document in the form of attachments.

El texto es un espacio; 12 utiliza una fuente de puntos; se usa cursiva en vez de subrayado (exceptuando las direcciones URL); Las figuras y tablas se insertan en el texto, no al final del documento en forma de archivos adjuntos.

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

The text follows the style standards and bibliographic requirements described in Guidelines for Authors, on the About Journal page.

El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo indicados en las Normas Autor, en la página Acerca de la revista.

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

In case of submission to a peer-reviewed section (eg articles), the instructions available under Ensuring blind peer evaluation were followed.

En caso de presentación de una sección con revisión por pares (por ejemplo:. Artículos), se siguieron las instrucciones disponibles para garantizar la evaluación por los pares ciegos.

7. Originalidade do estudo.

Originality of the study.

Originalidad de estudio.

### Declaração de Direito Autoral

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

- a) Autores mantém os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira 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.
- b) Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.
- c) Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado.

Authors who publish in this journal agree to the following terms:

- a) Authors retain the copyright and grant the journal the right of first publication, with the work simultaneously licensed under the Creative Commons Attribution License which allows the sharing of work with acknowledgment of authorship and initial publication in this journal.
- b) Authors are authorized to take additional contracts separately, for non-exclusive distribution of the version of the work published in this journal (eg publish in institutional repository or as a book chapter), with acknowledgment of authorship and initial publication in this journal.
- c) Authors are allowed and encouraged to publish and distribute their work online (eg in institutional repositories or on their personal page) at any point before or during the editorial process, as this can generate productive changes as well as increase the impact and the citation of the published work.

Los autores que publican en esta revista están de acuerdo con los siguientes términos:

- a) Los autores conservan los derechos de autor y conceden el muñón derecho de la primera publicación de la obra almismo tiempo licenciado bajo la licencia Creative Commons Atribución que permite compartir el trabajo con el reconocimiento de su publicación inicial en esta revista.
- b) Los autores son capaces de asumir contratos adicionales por separado, la distribución no exclusiva de la versión delartículo publicado en esta revista (por ejemplo: Publicar en el repositorio institucional o como un libro), con un reconocimiento de su publicación inicial en esta revista.
- c) Los autores están permitidos y alentados a publicar su trabajo en línea (por ejemplo: En repositorios institucionales oen su página web) en cualquier momento antes o durante el proceso de redacción, ya que puede dar lugar a intercambios productivos, así como aumentar el impacto y la citación de los trabajos publicados.

#### Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

The names and addresses informed in this journal will be used exclusively for the services provided by this publication and are not made available for other purposes or to third parties.

Los nombres y direcciones de correo-e introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los servicios prestados por esta publicación y no está disponible para otros fines o para terceros.

# ISSN 2526-1010

#### ANEXO II - Certificado do Comitê de Ética



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL



### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo № 23108.002959/13-3, sobre "Inter-relações entre acupuntura sistêmica e auricular em parâmetros imunológicos e na motilidade gastrintestinal de ratos", sob a responsabilidade de Prof# Dr# MADILEINE FRANCELY AMÉRICO/Prof® MSc. LUANA DOS ANJOS RAMOS, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de laboratório (SBCAL), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)-UFMT em reunião ordinária de 18/04/2013.

#### CERTIFICATE

We certify that the protocol Nº 23108.002959/13-3, entitled "Relationship between systemic and auricular acupuncture in immunological parameters and in gastrointestinal motility of rats", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian Society of Science in Animals of Laboratory (SBCAL). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in the Use of Animals (Federal University of Mato Grosso -- UFMT) on Apr 18, 2013.

Cuiabă-MT, 18 de abril de 2013.

Presidente

Man Douds Surabuta Prof® Dr® Nair Honda Kawashita Vice-Presidente

nereliade Federal de Malo Grosso – UPMT leta Universitário – Av. Farrando Geres de Costa, 2.367 mis Bos Caperieroja – CEP 78000-800 – CUIASA-MT, Bresti.