

Avaliação de toxicidade aguda através do bioensaio com *Artemia salina* e as espécies vegetais *Ruta graveolens*, *Petiveria tetrandia*, *Artemisia absinthium* e *Allamanda cathartica*.

Acute toxicity assessment through the bioassay with *Artemia salina* and the plant species *Ruta graveolens*, *Petiveria tetrandia*, *Artemisia absinthium* and *Allamanda cathartica*.

* Enzo Paulesini de Sousa

** Prof.^a M.^a Adair Alemany

* Autor

** Orientador

Pesquisa Financiada pela Vice-Reitoria de Pós-Graduação e
Pesquisa da UNIP, no Programa “Iniciação Científica”.

É proibida a reprodução total ou parcial.

Enzo Paulesini de Sousa

UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

Resumo: A aplicação de fitoterápicos na medicina não é somente uma prática milenar como também vem apresentando ressurgimento ao longo das últimas décadas. Os chás e preparos de vegetais podem ser ótimos auxiliares em diversos tratamentos, entretanto, não se isentam os riscos associados a envenenamentos e reações desagradáveis. A pesquisa apresentada teve como objetivo o levantamento de dados acerca da toxicidade de quatro espécies vegetais comumente utilizadas na medicina popular brasileira. O organismo modelo escolhido foi a *Artemia salina*, microcrustáceo ideal para ensaios toxicológicos. O trabalho iniciou-se com o preparo dos extratos vegetais como descritos na Metodologia de Meyer et al. (1982), através da submersão de 10 gramas de três órgãos vegetais (raízes, caules e folhas) em álcool 96%, seguidos de filtração e banho maria. Com os extratos preparados e devidamente ressuspensos em 10ml de água destilada, oito diferentes dosagens foram selecionadas, variando de 10 a 1000µl. Cada dosagem foi aplicada em duplicata a uma placa de petri contendo 10 náuplios de artêmias e 5ml da mesma solução salina utilizada em sua eclosão. Após 24 horas o número de artêmias mortas foi contabilizado. O processo então foi repetido com as artêmias em sua fase adulta. Após a coleta de tais dados tornou-se possível a elaboração de gráficos comparativos medindo a taxa de mortalidade dos organismos quando expostos a cada vegetal, e seus órgãos respectivos, em diferentes dosagens. Os resultados foram, como esperados, diversos, mostrando significativa diferença tanto nas dosagens como nas diferentes partes das plantas. Alguns extratos, como o da raiz de *Petiveria tetrandia* mantiveram uma alta constante toxicidade desde dosagens menores quando expostas aos náuplios, enquanto outros como aquele obtido através dos caules da *Ruta graveolens* exibiram uma letalidade crescente de acordo com o aumento de sua dosagem. Com os dados coletados também se torna possível a elaboração de diretrizes como a DL₅₀ (dose letal mediana), através da contabilização da dosagem necessária para que 50% da população seja morta.

Palavras-Chave: Toxicologia, Medicinal, Artêmias

Abstract: The application of herbal based remedies in medicine is not only an ancient practice, but also has shown a resurgence over the last decades. Teas and concoctions can be excellent assistants in several treatments, however, the risks associated with poisonings and unpleasant reactions cannot be denied. The research here presented aimed to collect data on the toxicity of four plant species used in Brazilian popular medicine. The model organism chosen for this project was the *Artemia salina*, a microcrustacean ideal for toxicological tests. The research started with the preparation of the extracts as show in the Methodology of Meyer et al. (1982), by immersing 10 grams of three different plant organs (roots, stems and leaves) in 96% alcohol, followed by filtration and a water bath. With the extracts prepared and resuspended in 10ml of distilled water, eight different dosages were selected, ranging from 10 to 1000 μ l. Each dosage was applied in duplicate to a petri dish containing 10 nauplii of brine shrimp and 5 ml of the same saline solution used for hatching. After 24 hours the number of deaths were counted. The process was then repeated with the mature brine shrimp. By collecting such data, it became possible to create comparative graphs measuring the mortality rate of organisms when exposed to each plant, and their specific organs, in different dosages. The results were, as expected, diverse, showing differences both in dosages and in different plants organs. Some extracts, such as that of the *Petiveria tetrandra* root, maintained a constant high toxicity since lower dosages when exposed to nauplii, while others such as those of *Ruta graveolens* stems exhibited an increasing lethality according to the enhancement of the dose. With the data collected, it is also possible to develop guidelines such as LD₅₀ (lethal dose, 50%), by calculating the dosage necessary to kill at least 50% of the population.

Key-Words: Toxicology, Medicinal, Brine shrimp

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	6
MÉTODOS	9
RESULTADOS.....	11
DISCUSSÃO.....	16
CONCLUSÃO.....	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
ANEXOS.....	21

INTRODUÇÃO

Uma das práticas médicas mais antigas na história da humanidade vem da utilização de plantas como meio de curar e prevenir diversos tipos de doenças. De acordo com um estudo realizado no início da década de 1990, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), foi constatado que entre 65-80% da população que reside em países em desenvolvimento dependem exclusivamente do uso de plantas medicinais como forma de administrar os cuidados básicos da saúde (Junior et al., 2005).

No Brasil, o consumo de plantas medicinais é realizado com pouca ou nenhuma validação de suas propriedades farmacológicas, sua utilização chega inclusive a diferir das práticas originais empregadas pelos silvícolas. Com a premissa de que sua procedência natural é associada a um tratamento livre de riscos, cria-se a falsa ideia de que a aplicação das plantas medicinais e outros fitoterápicos, supostamente, não apresentariam aspectos nocivos à saúde (Junior et al, 2005).

Um levantamento realizado no município de Extrema, Minas Gerais, Brasil, revela a utilização das raízes de *Ruta graveolens* (nome popular: arruda) em banhos, infusões e macerações para o tratamento de dores no corpo, mau olhado, conjuntivite e cólica menstrual. Assim como o uso de decocções e infusões feitas a partir das folhas de *Artemisia absinthium* (nome popular: losna) para o tratamento de náuseas e dores estomacais (Costa; Mayworm, 2011).

A respeito das características morfológicas dos vegetais, a *Ruta graveolens* (família Rutaceae) é descrita como um subarbusto perenifólio. Suas folhas, medindo de 12 a 15 mm de comprimento, são alternadas, pecioladas e tripinatifidas, não apresentando estípulas ou tricomas, sua cobertura de glândulas oleíferas exala forte odor balsâmico característico, a coloração costuma ser de cor azul-esverdeada. As flores são amarelo-esverdeadas e os frutos secos e rugosos. Estão distribuídas principalmente em países de climas tropicais, subtropicais e temperados. (Ministério da Saúde, 2015).

As descrições quanto a espécie *Artemisia absinthium* (família Asteraceae) são de uma planta perene e lenhosa, com hábito de um arbusto de pequeno porte, com 40 cm a 1 m de altura. Suas folhas aromáticas possuem coloração

verde-acinzentada, sendo cobertas por pequenos pelos brancos (Teske; Trentini, 1997).

Outro trabalho realizado na região de Sete de Setembro, Rio Grande do Sul, Brasil, indicou a realização de chás e gargarejos preparados a partir das folhas e raízes de *Petiveria tetrandra* (nome popular: guiné) para a cura de dores de dente e reumatismo (Dluzniewski; Müller, 2018).

Originária da África e América Tropical, e no Brasil uma planta ruderal, a *Petiveria tetrandra*, da família Phytolaccaceae, tem como características seu hábito de subarbusto e um distinto odor de alho. Apresentam pequenas flores alvas (Guedes et al, 1985).

Quanto ao uso da alamanda (*Allamanda cathartica*), destaca-se sua utilização para o tratamento de malária e icterícia (Nayak et al., 2006), bem como o uso de seu látex como purgativo por comunidades nos estados de Pernambuco e Paraíba, Brasil (Moura; Agra, 1989).

Da família botânica Apocynaceae, a *Allamanda cathartica* pode ser comumente encontrada em jardins brasileiros, bem como na criação de cercas vivas. Uma trepadeira de ciclo perene, a alamanda possui flores amarelas e folhas verde brilhantes. Sua presença no paisagismo é comum (Lorenzi; Souza, 2001).

A *Artemia salina*, um microcrustáceo da ordem Anostraca é um crustáceo filtrador cuja a alimentação é constituída por bactérias, algas unicelulares, pequenos protozoários entre outros detritos. Sua filtração tem origem nos toracópodos, cuja a função é o transporte das partículas alimentícias até o sistema digestório (Souto, 1991). Uma das maiores vantagens de sua utilização como bioindicador em ensaios toxicológicos é seu baixo custo e sua fácil manipulação em laboratório (Calow, 1993).

Os ensaios toxicológicos são realizados com o intuito de avaliar ou prever os efeitos toxicológicos nos sistemas biológicos, bem como dar dimensão a toxicidade relativa das substâncias (Forbes e Forbes, 1994). O ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* fora desenvolvido com o objetivo da detecção de compostos bioativos em extratos vegetais (Meyer et al., 1982).

OBJETIVOS

Objetivos Gerais:

O projeto tem como objetivo fazer um levantamento da *dose letal mediana* (DL₅₀) em um ensaio de toxicidade aguda acerca das substâncias presentes nas seguintes plantas: *Ruta graveolens*; *Petiveria tetrandra*; *Artemisia absinthium* e *Euphorbia tirucalli*, utilizando a *Artemia salina* como organismo bioindicador.

Objetivos específicos:

- I. Avaliar a toxicidade dos extratos na exposição da raiz;
 - II. Avaliar a toxicidade dos extratos na exposição do caule;
 - III. Avaliar a toxicidade dos extratos na exposição das folhas;
 - IV. Estudo comparativo entre os efeitos apresentados nos náuplios de artêmias e artêmias adultas.
-

HIPOTESES

Com o intuito de se obter com precisão a *dose letal mediana* (DL₅₀) das substâncias estudadas é esperado minimamente 50% de mortalidade nas amostras de *Artemia salina*. Espera-se também que diferentes dosagens apresentem diferentes taxas de mortalidade. Ainda que cada espécie vegetal possua uma toxicidade específica, é provável que exista variações de acordo com os órgãos estudados. É previsto que as artêmias em sua fase larval sejam mais suscetíveis aos efeitos tóxicos, como ocorre na maioria dos organismos imaturos.

JUSTIFICATIVA

A utilização de plantas como recurso terapêutico é evidenciada em diversas comunidades brasileiras, bem como uma crescente busca de produtos naturais nas populações urbanas. Ainda que a aplicação de tais espécies seja de extrema importância para a cultura e o conhecimento popular e tradicional é necessário que se realizem estudos que determinem noções básicas acerca de sua toxicidade, estabelecendo assim parâmetros seguros quanto a seu aproveitamento.

Conjuntamente o emprego da *Artemia salina* como bioindicador viabiliza um estudo de baixo custo e manutenção, tendo sua eficiência previamente assegurada em estudos anteriores.

Com o decorrer do projeto será possível uma análise comparativa em relação aos níveis toxicológicos de quatro espécies de uso medicinal popular, contribuindo assim para os estudos da Etnobotânica e Toxicologia, compreendendo suas características tóxicas e possíveis riscos ao meio biológico e a saúde pública.

MÉTODOS

Metodologia de acordo com Meyer *et al.* (1982), adaptado para o experimento.

Para a preparação dos extratos das plantas:

- 10 gramas da folha, caule e raiz de cada um dos vegetais analisados.
 - 100 mL de álcool 96%.
1. As folhas, caules e raízes da planta devem ser macerados com o álcool e deixados em repouso durante o período de 7 dias.
 2. Após este período, filtrar e levar ao banho-maria à 70°C até a redução total do álcool.
 3. Retirar o extrato bruto (pasta de coloração verde escuro) do fundo e das paredes do béquer, pesar em balança de precisão e armazenar em tubo de ensaio com tampa.
 4. No momento do uso, ressuspender o extrato com 10ml de água destilada e homogeneizar o conteúdo através de agitação vigorosa, obtendo-se assim o extrato final.

Eclosão dos cistos de *Artemia salina*:

- Solução salina:
- 1 L de água destilada
- 30 gramas de sal marinho
- Lâmpada de 25W (posicionada acima do recipiente)

- Temperatura da água: entre 26-28°C
- pH: entre 8 e 9
- Aeração constante durante 48 horas.

Preparação do experimento:

Com o auxílio de uma pipeta pasteur, separar os náuplios recém eclodidos e transferi-los para as placas de acrílico. Cada placa receberá 10 náuplios e 5mL da mesma solução utilizada para a eclosão.

Controle negativo: 5 mL solução salina.

Concentrações dos extratos: **10, 25, 50, 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/ml**. Os testes serão realizados em duplicata.

Após 24 horas, contabilizar os indivíduos mortos e os indivíduos sobreviventes. Serão considerados mortos os náuplios que permaneceram imóveis por mais de 10 segundos após agitação suave das placas.

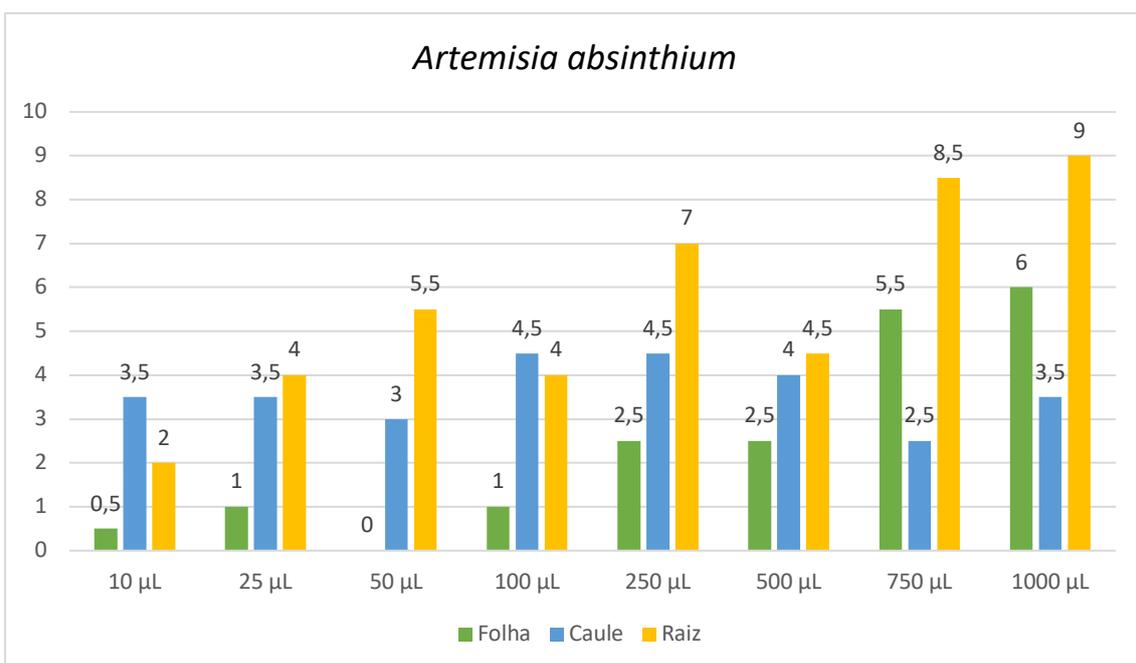
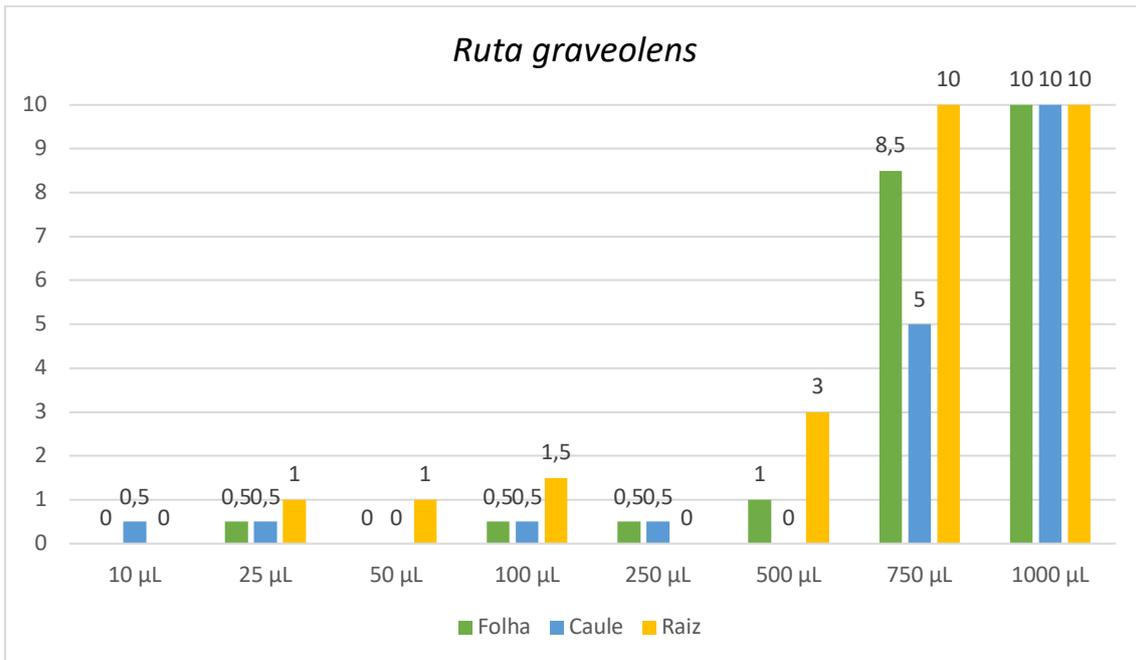
Por fim, todo o procedimento será repetido, desta vez, com a utilização da *Artemia salina* adulta. Para isso os náuplios serão alimentados (com exceção aos três primeiros dias de vida, onde as larvas alimentam-se das reservas contidas em seus sacos vitelinos) com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) por aproximadamente 5 semanas, tempo necessário para sua maturação.

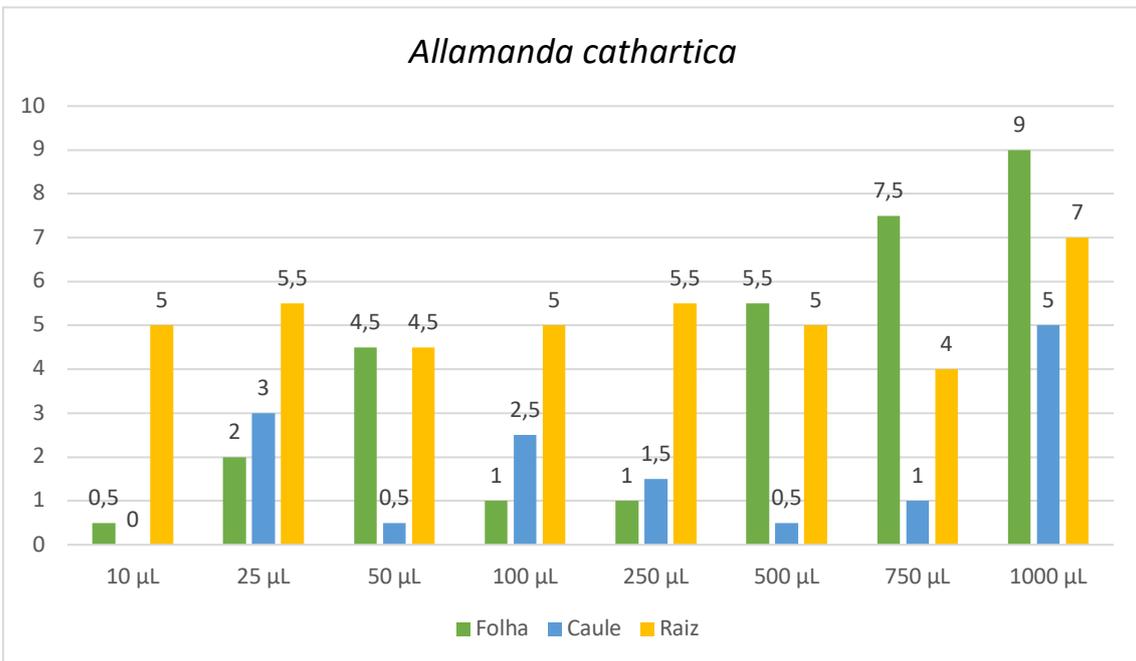
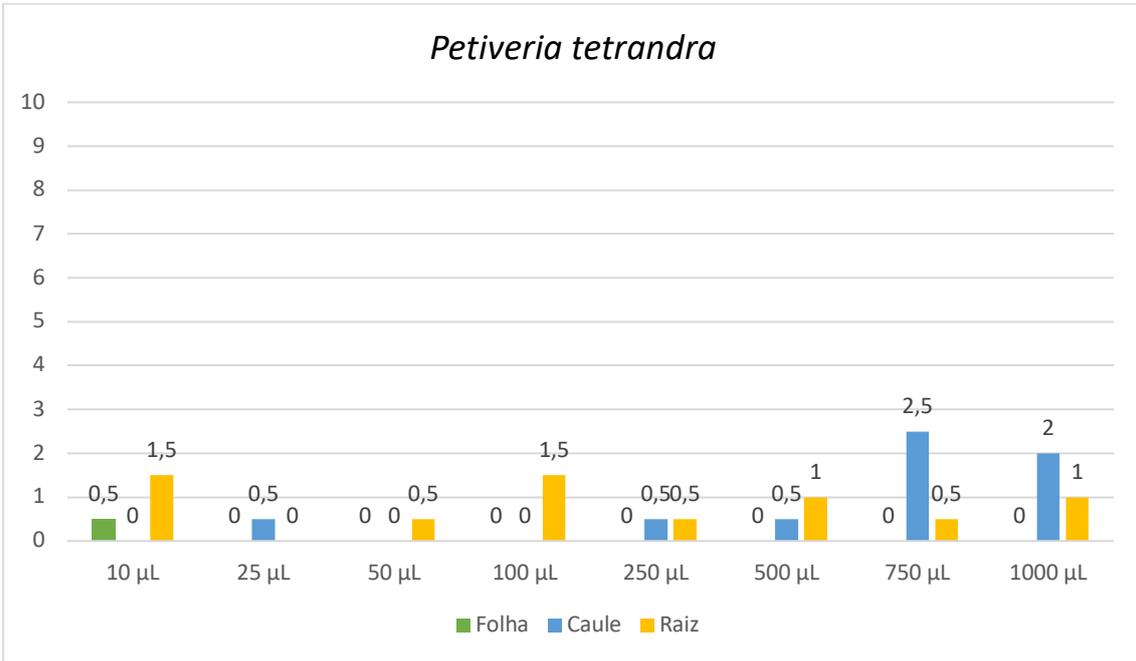
RESULTADOS

Quantificação de mortalidade:

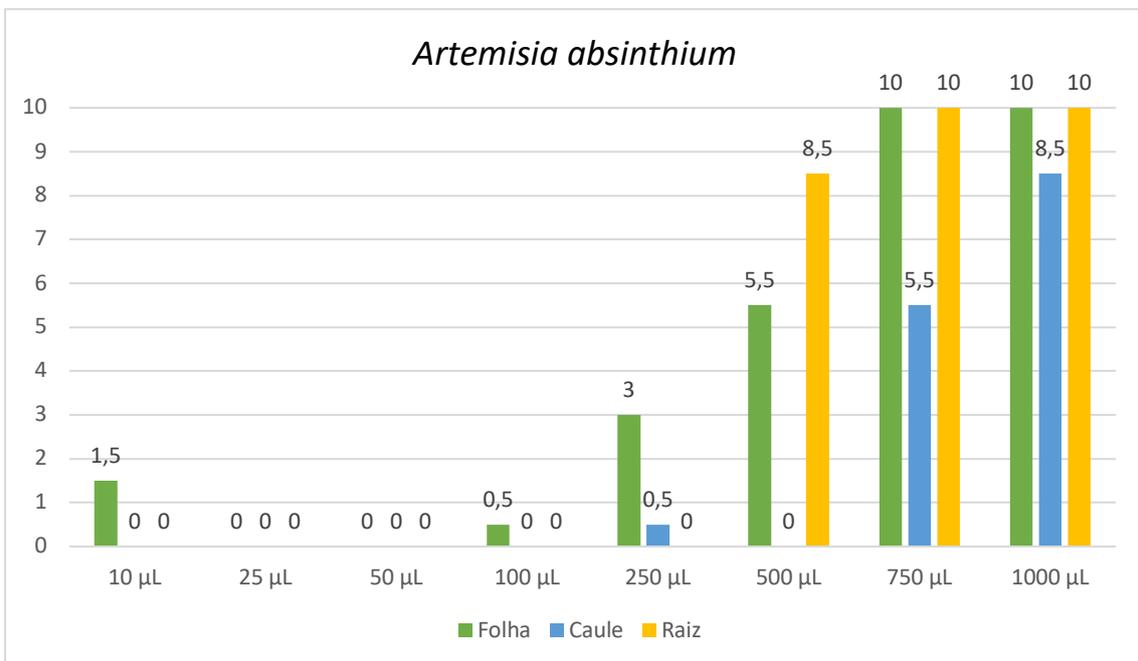
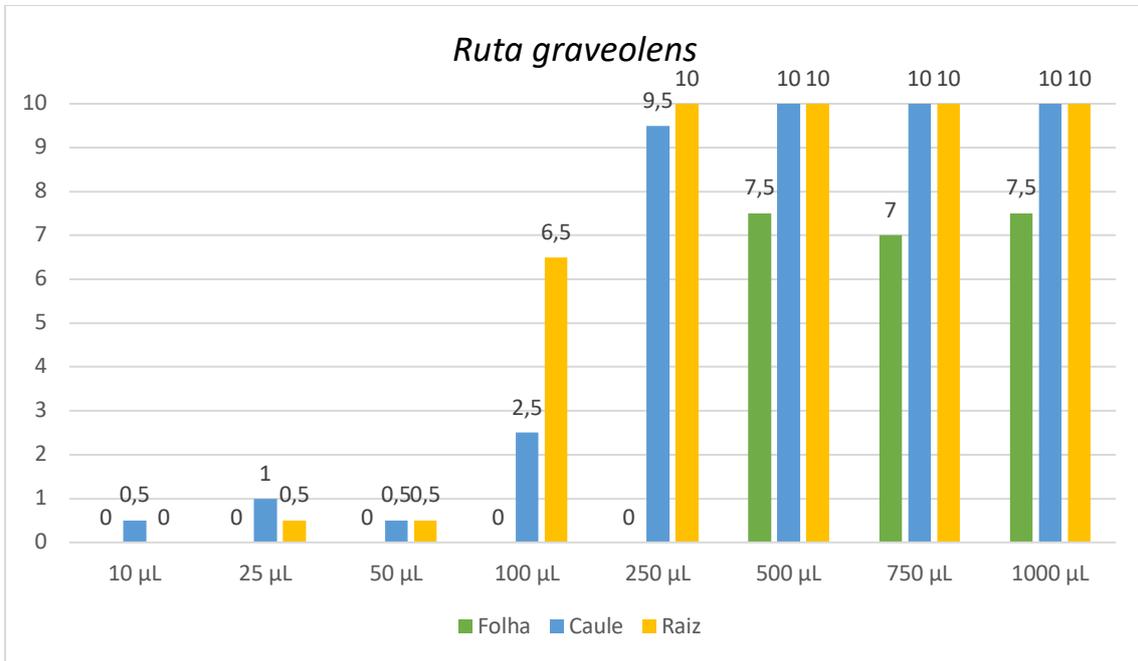
Os gráficos a seguir elaboram a taxa de indivíduos mortos quando expostas as respectivas dosagens.

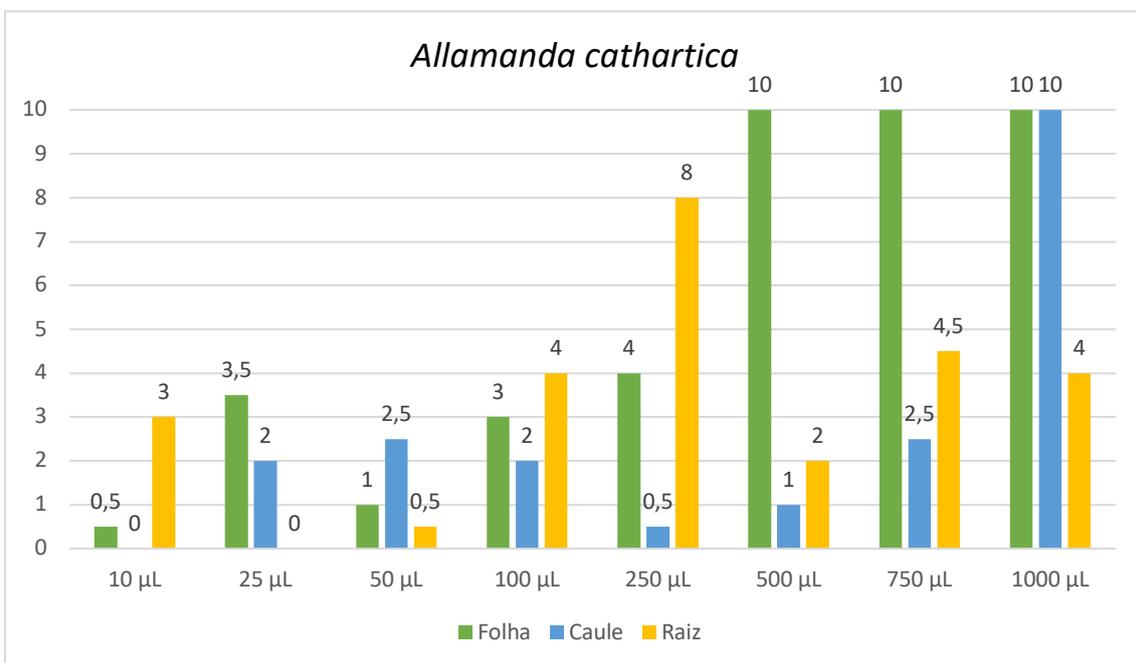
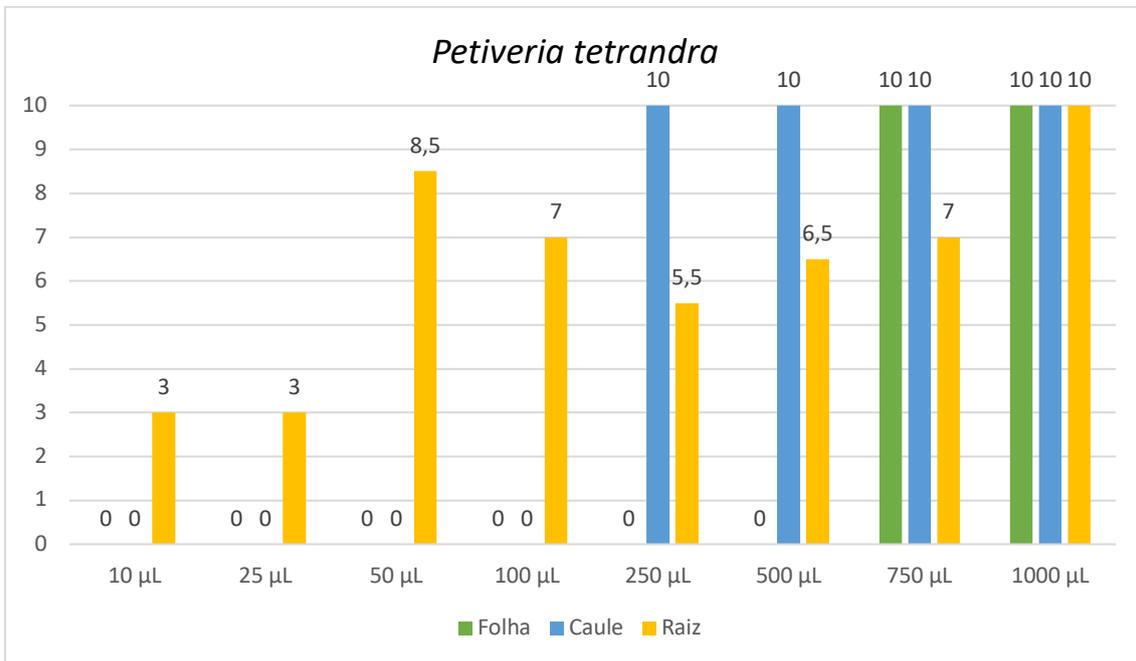
Artêmias adultas:





Náuplios de artêmias:





Noções acerca da dose letal mediana (DL₅₀):

A dose letal mediana será atribuída para cada órgão vegetal cujo determinada dosagem for eficaz em matar ao menos 50% da população em estudo, isto é, cinco das dez artêmias/náuplios.

<i>Ruta graveolens</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	750 µl	500 µl
Caule	750 µl	250 µl
Raiz	750 µl	100 µl

<i>Artemisia absinthium</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	750 µl	500 µl
Caule	Não atingido	750 µl
Raiz	50 µl	500 µl

<i>Petiveria tetrandra</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	Não atingido	750 µl

Caule	Não atingido	250 µl
Raiz	Não atingido	50 µl

<i>Allamanda carthartica</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	750 µl	500 µl
Caule	1000 µl	1000 µl
Raiz	10 µl	250 µl

DISCUSSÃO

Trabalhos que se utilizam das artêmias e seus náuplios podem apresentar diversas variáveis devido as necessidades específicas do organismo modelo, como salinidade, disponibilidade de luz, nutrição, temperatura etc., como mostrado por Bueno e Piovezan (2015), que podem interferir nas taxas de mortalidade, entretanto certos padrões podem ser observados.

Um dos pontos mais marcantes é a maior resistência das artêmias adultas em relação ao náuplios, efeito provavelmente derivado da diferença de massa dos organismos. De acordo com o esperado, o aumento da dose se correlacionou de forma geral com a letalidade, tal qual estudos como o de Menezes et al. (2019).

Quanto a fitotoxicidade dos extratos, as raízes apresentaram em sua maioria um maior potencial tóxico, em especial a raiz de *Allamanda carthartica*, apesar disso, já se foi comprovado em estudos como Okwubie e Chukwudi (2017) a ação antibacteriana dos extratos da raiz deste vegetal.

Com exceção da *Petiveria tetrandra*, todas as folhas foram capazes de eliminar 50% da população teste adulta ao atingirem a dosagem de 750 µl. É interessante notar que ainda que os náuplios tenham sido mais suscetíveis, dois extratos não seguiram este padrão: Foram os casos das raízes de *Artemisia absinthium* e *Allamanda carthartica*.

A *Petiveria tetrandra* se mostrou o vegetal menos tóxico do experimento, onde nenhuma concentração foi suficiente para matar 50% da população, ainda que sua raiz tenha mostrado alta letalidade entre os náuplios. Entretanto estudos mostrados por Souza. (2019) indicam que a intoxicação por *Petiveria tetrandra* pode causar efeitos abortivos, alucinações e insônia, tais sintomas podem ser mais presentes em humanos e outros mamíferos, não sendo bem simulados pelas artêmias.

CONCLUSÃO

A toxicidade e a segurança referente ao emprego de fitoterápicos baseiam-se em diversos aspectos como a preparação, dosagem, e forma de absorção. Estudos que se utilizam de organismos modelos como a *Artemia salina*, tornam-se ideias como pesquisas de base para que se possam estabelecer novas diretrizes guiando estudos futuros, levantando perguntas e hipóteses a cerca dos resultados obtidos.

Conclui-se que mais pesquisas devem ser realizadas a fim de se entender com mais clareza como os vegetais analisados possam ser aplicados de forma que seus efeitos tóxicos sejam minimizados ou anulados, bem como constatar quais são os princípios ativos responsáveis pela ação medicinal já conhecida pelo conhecimento popular.

A *Artemia salina* mostrou-se também uma ótima alternativa para a realização do projeto, evitando o uso de mamíferos, bem como facilitando o manejo laboratorial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NAYAK, S.; NALABOTHU, P.; SANDIFORD, S. *et al.* Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica* L. and *Laurus nobilis* L. extracts on rats. *BMC Complement Altern Med* 6, 12. 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. Plantas ornamentais no Brasil: Arbustas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa: Platanum 3.ed. 2001. 1088p.

MOURA, B. D. M.; AGRA, F, M. Apocynaceae tóxicas e medicinais ocorrentes nos estados de Pernambuco e Paraíba, Brasil. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil, 1989.

BUENO, C. A.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando Artemia salina: fatores envolvidos em sua eficácia. Instituto Federal de Santa Catarina. Brasil, 2015.

MENEZES, A. D.; SILVA, N. D. A. Triagem toxicológica de extratos de *Pimenta pseudocaryophyllum* (Gomes) L.R. Landrum frente à Artemia salina Leach. Anais da Faculdade de Medicina de Olinda, Vol. 1, Nº 3, 2019.

SOUZA, S. R. PLANTAS ORNAMENTAIS TÓXICAS NO MUNICÍPIO DE COMODORO-MT. Biodiversidade – n.18, v.2, 2019 – pág. 79.

OKWUBIE, L.; CHUKWUDI, C, S. Evaluation of the antimicrobial activity of the crude root extracts of *Allamanda cathartica* L (Apocynaceae). Department of Pharmacognosy and Phytotherapy University of Port Harcourt, Rivers State, Nigeria. 2017.

CALOW, P. Marine and estuarine invertebrate toxicity tests. In: HOFFMAN, D. et al. Handbook in cytotoxicology. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1993. v. 1. p. 1-5.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. Ecotoxicology in theory and practice. Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mcl. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Journal of Medical Plant Research, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

SOUTO, F. J. B. Influências de parâmetros ambientais sobre *Artemia* sp (Branchiopoda: Artemiidae) em uma salina artesanal do estado do Rio Grande do Norte. Curso de Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia, Universidade Federal da Paraíba, 1991, 19 p.

COSTA, V. P.; MAYWORM, M. A. S. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade do bairro dos Tenentes - município de Extrema, MG, Brasil. Universidade de Santo Amaro, Faculdade de Biologia. 2011, 11 p.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências da Natureza, 2010, 20 p.

DLUZNIEWSKIL, F.S.; MULLER, N.T.G. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas no município de Sete de Setembro, Rio Grande do Sul Brasil, Brasil. PERSPECTIVA, Erechim. v. 42, n.157, p. 49-61, 2018.

JUNIOR, V. F. V. J.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: Cura segura? Quim. Nova, Vol. 28, No. 3, 519-528, 2005.

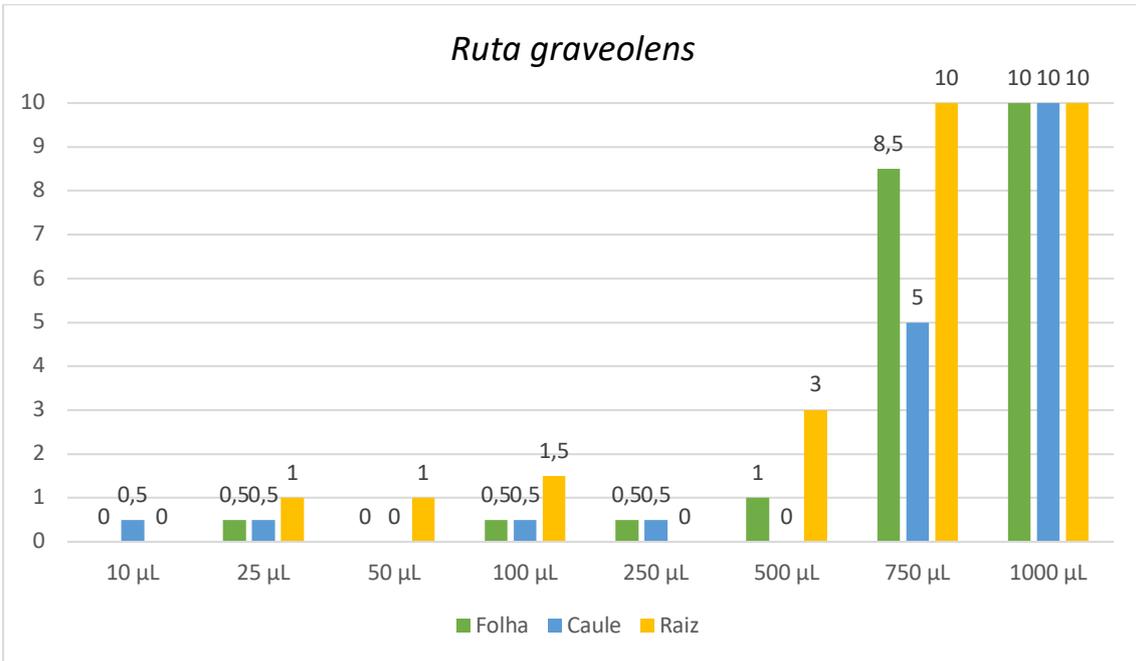
MINISTERIO DA SAÚDE E ANVISA. Monografia da espécie *Ruta graveolens* L. (Arruda). Brasília, 2015.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. Herbarium compêndio de fitoterapia. 3 ed. Curitiba, 1997.

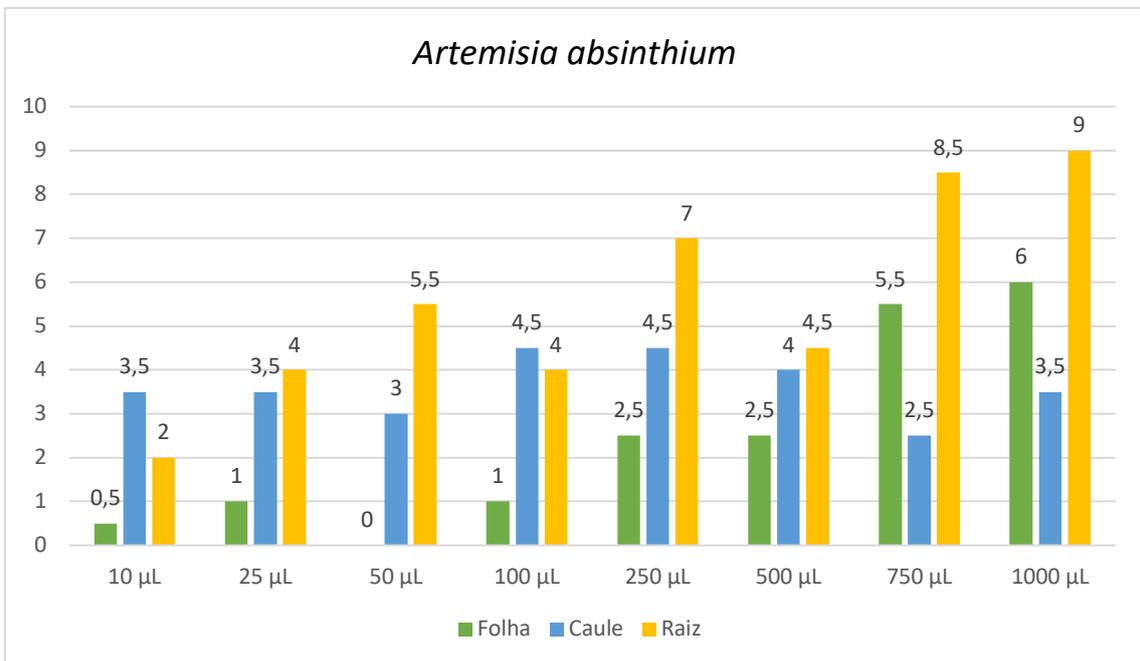
PRASHANT, Y. M.; SHITAL S. P. *Euphorbia tirucalli* L.: Review on morphology, medicinal uses, phytochemistry and pharmacological activities. Department of Pharmacology, Institute of Pharmacy, Nirma University, 2017, 11 p.

GUEDES, R. R.; PROFICE, S. R.; COSTA, E. L.; BAUMGRATZ, J. F. A.; LIMA, H. C. Plantas utilizadas em rituais afro-brasileiros no Estado do Rio de Janeiro – Um ensaio Etnobotânico. Curso de Pós-Graduação em Botânica do Museu Nacional do Rio de Janeiro – UFRJ, 1987, 9 p.

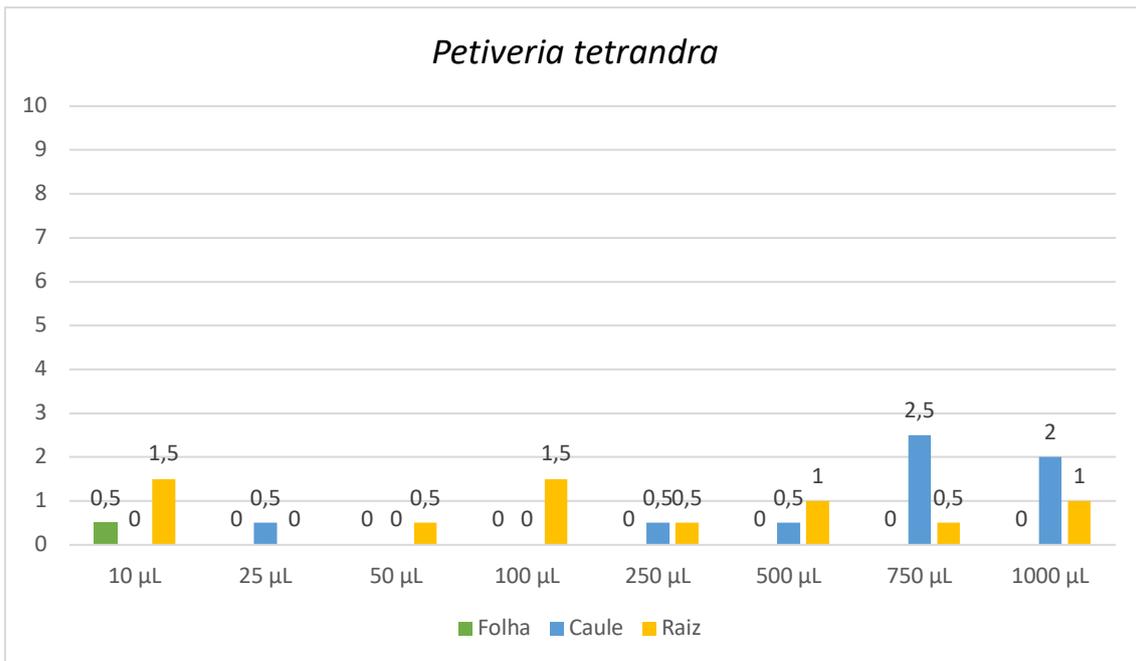
ANEXOS



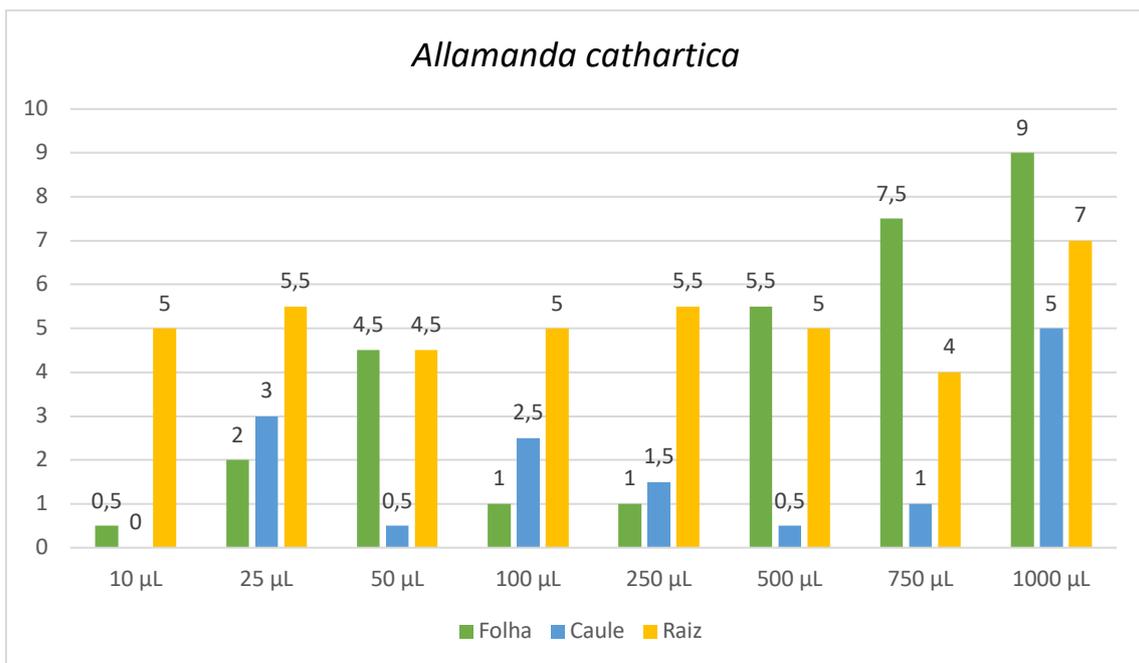
I - Mortalidade de Artêmias adultas



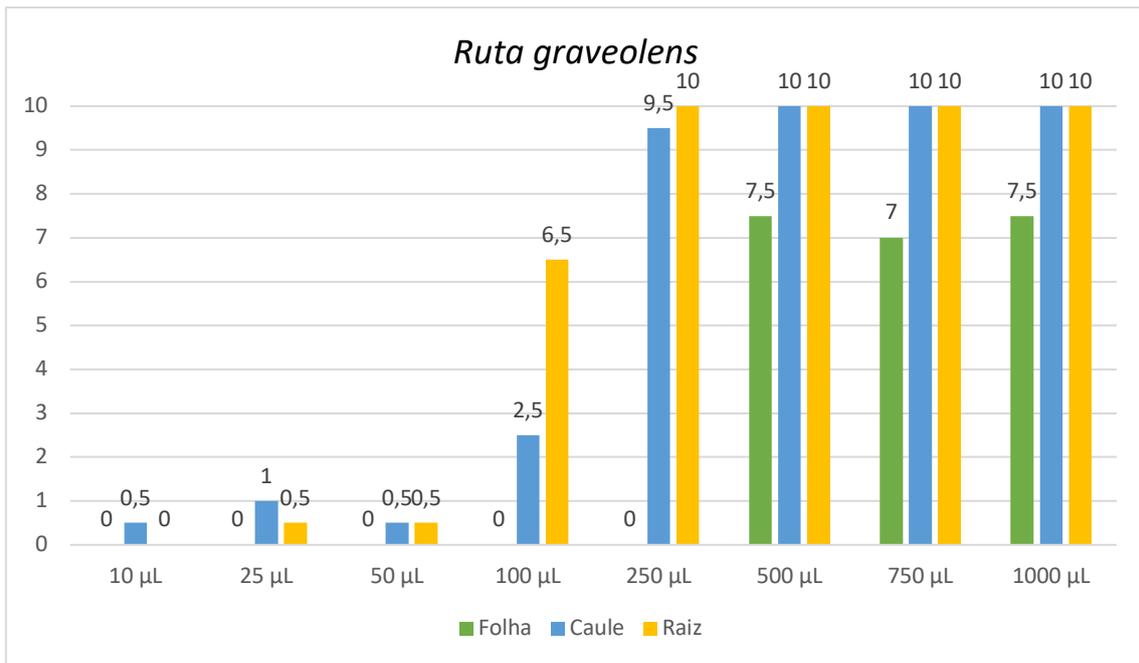
II - Mortalidade de Artêmias adultas



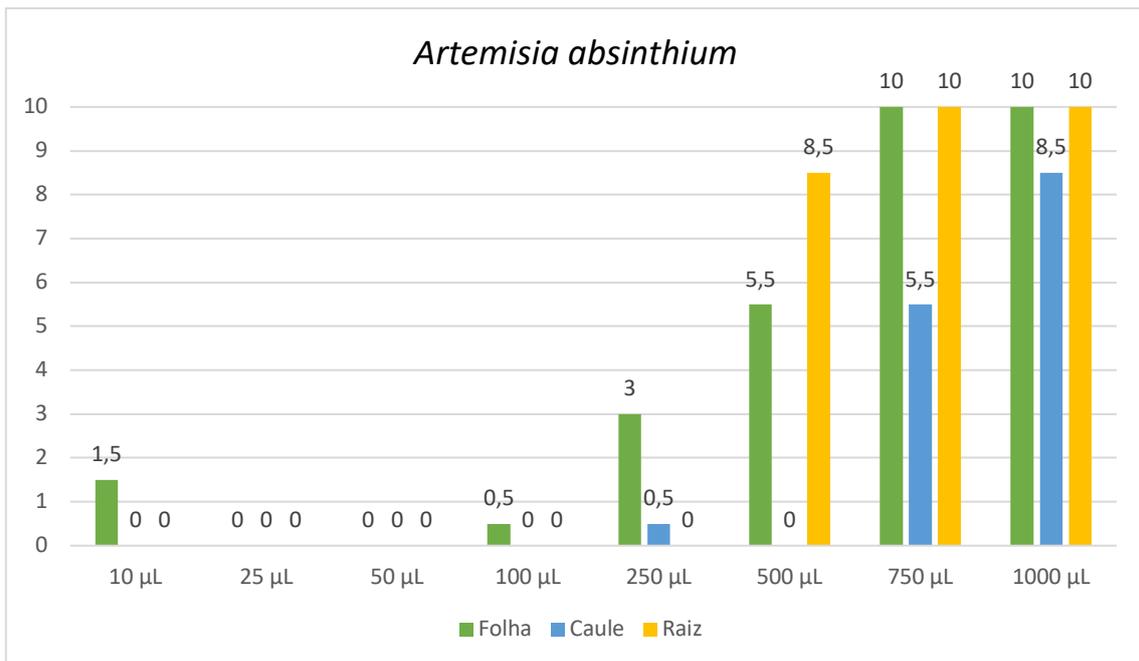
III - Mortalidade de Artêmias adultas



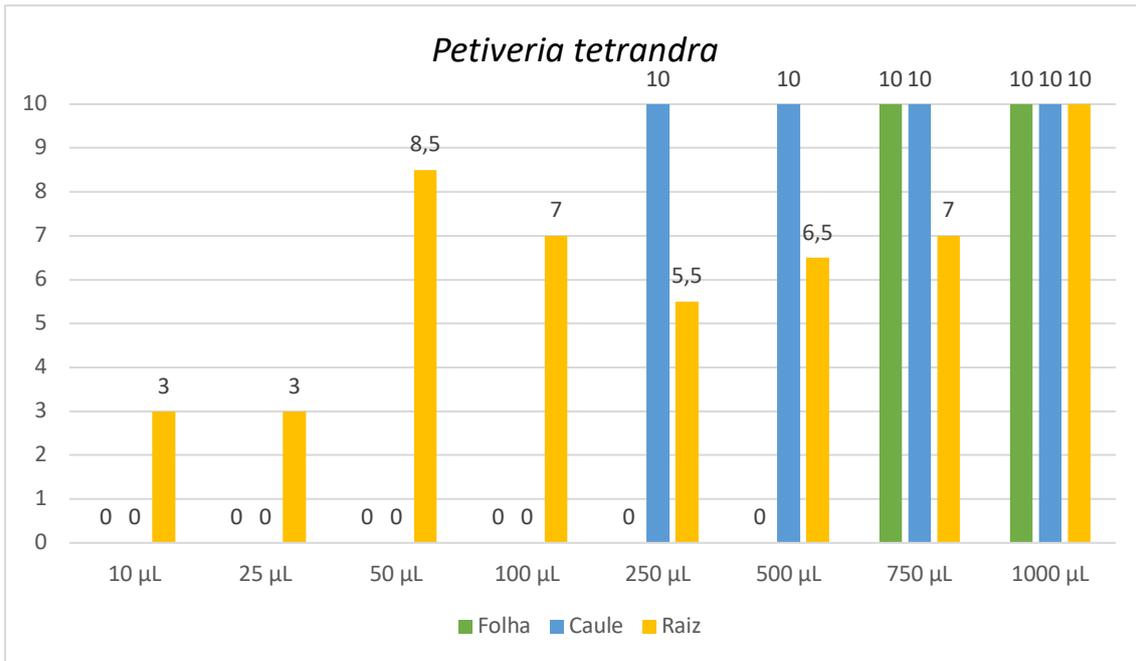
IV - Mortalidade de Artêmias adultas



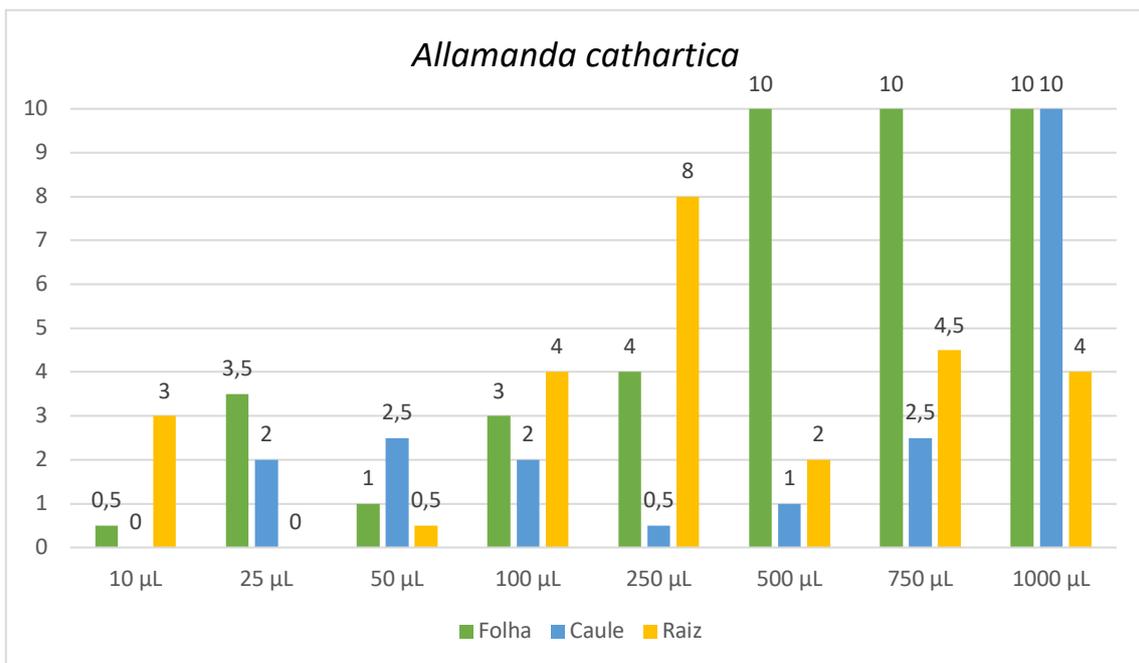
I - Mortalidade de Náuplios



II - Mortalidade de Náuplios



III - Mortalidade de Náuplios



IV - Mortalidade de Náuplios

<i>Ruta graveolens</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	750 µl	500 µl
Caule	750 µl	250 µl
Raiz	750 µl	100 µl

<i>Artemisia absinthium</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	750 µl	500 µl
Caule	Não atingido	750 µl
Raiz	50 µl	500 µl

<i>Petiveria tetrandra</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	Não atingido	750 µl
Caule	Não atingido	250 µl
Raiz	Não atingido	50 µl

<i>Allamanda carthartica</i>	Artêmias adultas	Náuplios
Folha	750 µl	500 µl
Caule	1000 µl	1000 µl
Raiz	10 µl	250 µl

Dosagem necessária para atingir 50% de mortalidade

Planilha de avaliação da parte escrita do artigo científico entregue como Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas (TCCB)	Data: 14/10/ 2020
---	--------------------------

Título do trabalho: **Avaliação de toxicidade aguda através do bioensaio com *Artemia salina* e as espécies vegetais *Ruta graveolens*, *Petiveria tetrandra*, *Artemisia absinthium* e *Allamanda cathartica*.**

Nome do aluno: Enzo Paulesini de Sousa RA: N25834-9

Nome do professor Adair Aparecida Santos Alemany Visto: _____

Trata-se do: orientador do trabalho (x) Sim () Não ou do co-orientador do trabalho () Sim () Não

Itens avaliados no artigo científico – parte escrita do TCCB

Caro Professor observar que os itens **b** e **g** se repetem, coloque nota somente em um dos itens que corresponda ao tipo de trabalho apresentado. Observar que o item **f** é somente para trabalhos com levantamento de dados.

	Item a ser avaliado	Valor Máximo	Nota aluno
a	Coerência do título com o trabalho em si e com o curso de Ciências Biológicas.	1,0	1,0
b	<u>Levantamento de dados</u> Observar a Presença de capa, Página de rosto, Resumo, Introdução, Justificativas e Objetivos, Material e métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Referências bibliográficas.	1,0	1,0
	<u>Revisões bibliográficas</u> , Para observar a Presença de capa, Página de rosto, Resumo, Introdução, Justificativas e Objetivos, Material e métodos (no caso, a revisão bibliográfica), Conclusão, Referências bibliográficas.	1,0	
c	Avaliar se a introdução apresenta levantamento bibliográfico atualizado e adequado para o tema	1,0	1,0
d	Avaliar se a metodologia empregada corresponde ao propósito da pesquisa	1,0	1,0
e	Avaliar se os objetivos expressam claramente a pesquisa a ser realizada	1,0	1,0
f	<u>Levantamento de dados</u> , Observar se em resultados ocorreu o correto tratamento dos dados (revisões bibliográficas não contem o item resultados).	1,0	1,0
g	<u>Levantamento de dados</u> , Observar se na discussão ocorre comparação com trabalhos similares e diversos (revisões bibliográficas podem não conter discussões).	1,0	1,0
	<u>Revisões bibliográficas</u> Observar se a introdução apresenta grande variedade de informações na pesquisa.	2,0	
h	Avaliar se as conclusões respondem aos objetivos propostos inicialmente	1,0	1,0
i	Avaliar se as referências bibliográficas seguem as normas Vancouver (observar mínimo de 7 e máximo de 30 referências, e observar que não podem existir somente "sites")	1,0	1,0
j	Avaliar o conjunto do trabalho escrito.	1,0	1,0
	Somatório	10,0	10,0