CENTRO UNIVERSITÁRIO DE PATOS UNIFIP
CURSO DE BACHARELADO BIOMEDICINA

CARLLA ROBERTA HENRIQUE LIMEIRA

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E EFEITOS ADVERSOS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À AUTO-HEMOTERAPIA

PATOS – PB
2026.1

CARLLA ROBERTA HENRIQUE LIMEIRA

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E EFEITOS ADVERSOS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À AUTO-HEMOTERAPIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário de Patos UNIFIP, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina pela referida instituição.

Orientador: Prof. Dr. André Lopes de Lima
Coorientador: Dr. Clécio Henrique Limeira

PATOS - PB
2026.1

CARLLA ROBERTA HENRIQUE LIMEIRA

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E EFEITOS ADVERSOS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À AUTO-HEMOTERAPIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro Universitário de Patos UNIFIP, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina pela referida instituição.

Aprovado em: 25 / 05 / 2026

PROF. DR. ANDRÉ LOPES DE LIMA
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE PATOS UNIFIP
(ORIENTADOR)

PROF. DR CLÉCIO HENRIQUE LIMEIRA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - UFCG
(1° MEMBRO)

PROF. MSC. JONAS FERREIRA DE ALMEIDA
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE PATOS UNIFIP
(2° MEMBRO)

FICHA CATALOGRÁFICA
Dados de Acordo com AACR2, CDU e CUTTER
Biblioteca Central - UNIFIP

Limeira, Carlla Roberta Henrique.
L732a Avaliação dos parâmetros hematológicos e efeitos adversos em ratos wistar submetidos à auto-hemoterapia./ Carlla Roberta Henrique Limeira.- Patos - PB: UNIFIP, 2026.
36 fls.

Orientador(a): Prof. Dr. André Lopes de Lima Artigo – Monografia, Graduação - Bacharelado em Biomedicina Centro Universitário de Patos UNIFIP

1.Auto-hemoterapia. 2. Sangue autólogo. 3. Hemograma. 4. Leucócitos. 5. Ratos Wistar. I. Título. II. UNIFIP

UNIFIP/BC CDU: 616.15
Francisco C. Leite – Bibliotecário. CRB 15/0076

A Deus, pela força constante, e ao meu pai, ao meu irmão e à minha tia Maria das Neves *(In memoriam)*, cujas memórias são a luz que guiam cada um dos meus passos e conquistas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu sustento e minha fortaleza, permitindo que eu superasse todos os obstáculos e chegasse a este momento de conclusão com fé e esperança.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. André Lopes de Lima**, pela orientação segura, pela paciência e por compartilhar seu vasto conhecimento, tornando possível a realização deste trabalho. Ao **Prof. Dr. Arthur Hipólito P. Leite,** expresso minha sincera gratidão por todo o apoio, acolhimento e incentivo que me foram fundamentais ao longo desta caminhada acadêmica. Ao **Prof. MSc. Jonas Ferreira de Almeida**, meu sincero agradecimento por todo o apoio e incentivo fundamentais dedicados ao longo desta jornada. À Coordenação do Curso de Biomedicina, na pessoa do coordenador **Prof. Vinícius Nunes**, pelo suporte e pela gestão que viabilizaram nossa trajetória acadêmica. Aos professores **Palloma Morato, Hithallo Figueiredo, Layana Quirino, Larissa Lopes, Elisangela Gomes e Lucas Lincon**, minha eterna gratidão pelo conhecimento partilhado, pela dedicação e pelo suporte que foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e profissional.

À minha mãe e aos meus irmãos, minha base sólida, pelo apoio incondicional, amor e sacrifício. Sem a ajuda e o incentivo constante de vocês, a realização deste sonho e esta nova realidade simplesmente não seriam possíveis. Obrigado por segurarem minha mão em todos os momentos.

À Mayana Araújo, a grande amiga que a faculdade me deu, meu muito obrigada por toda a paciência, empatia e escuta nos momentos em que mais precisei. Sua amizade foi um verdadeiro presente nessa caminhada.

Aos amigos que a graduação me presenteou, pela parceria nas bancadas de laboratório e por tornarem os dias de estudo mais leves. Estendo minha gratidão a todos os amigos que me ajudaram direta ou indiretamente, cujo apoio foi essencial para concluir esta etapa.

À minha família, de forma geral, por todo o amor, carinho e por torcerem vibrantemente pelo meu sucesso em cada etapa desta jornada.

A todos os colaboradores do Biolab, da Clínica de Estética e demais equipes do UNIFIP, pelo auxílio técnico e pela recepção sempre prestativa.

Aos meus cachorros, que com sua companhia silenciosa e afeto, foram meu porto seguro e me trouxeram paz nos momentos de maior cansaço.

“A compaixão pelos animais está intimamente ligada a bondade de caráter, e quem é cruel com os animais não pode ser um bom homem.”

Arthur Schopenhauer

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ratos Wistar alojados em grupos de três, em caixas de polipropileno forrada com serragem de pinus. 15

Figura 2 - Aquecimento da cauda (A), coleta de sangue pela punção da veia lateral da cauda (B) e veia gengival (C) e aplicação de sangue autológo (D) em ratos Wistar.....17

Figura 3 - Local da aplicação do sangue autólogo (A) e do anestésico (B) em um animal do grupo tratado, 6 dias após o procedimento experimental 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Média e desvio padrão (DP) dos parâmetros hematológicos e peso de ratos Wistar nos dias 0 (D0) e sete (D7) após aplicação de 100uL de sangue autólogo ou placebo. 19

Tabela 2. Média e desvio padrão (DP) da contagem diferencial dos leucócitos de ratos Wistar nos dias 0 (D0) e sete (D7) após aplicação de 100uL de sangue autólogo ou placebo. 21

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS **7**

LISTA DE TABELAS **8**

ARTIGO: Avaliação dos parâmetros hematológicos e efeitos adversos em ratos wistar submetidos à auto-hemoterapia 10

RESUMO **10**

ABSTRACT **11**

RESUMEN **11**

INTRODUÇÃO **13**

METODOLOGIA **14**

RESULTADOS E DISCUSSÃO **18**

CONSIDERAÇÕES FINAIS **25**

REFERÊNCIAS **26**

ANEXO A: Certidão de Aprovação Comitê de Ética no Uso de Animais **29**

ANEXO B: Instruções para Autores da Revista COOPEX **30**

ARTIGO A SER SUBMETIDO À REVISTA COOPEX DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DE PATOS

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E EFEITOS ADVERSOS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À AUTO-HEMOTERAPIA

Revista COOPEX (ISSN:2177-5052)

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E EFEITOS ADVERSOS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À AUTO-HEMOTERAPIA

Evaluation of hematological parameters and adverse effects in Wistar rats subjected to autohemotherapy

Evaluación de los parámetros hematológicos y efectos adversos en ratas wistar sometidas a autohemoterapia

Carlla Roberta Henrique Limeira.
Acadêmica do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Patos - UNIFIP. Email: roberta.bebeta@gmail.com

Mylena Kelly Caetano de Souza. Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. E-mail: mylenasouza145@gmail.com

Jonas Ferreira de Almeida. Docente do Curso de Bacharelado em Biomedicina - UNIFIP. Email: jonasalmeida1@fiponline.edu.br

Clécio Henrique Limeira. Médico Veterinário, Laboratório de Doenças Transmissíveis, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. E-mail: clecio.henrique@ufcg.edu.br

André Lopes de Lima. Docente do Curso de Bacharelado em Biomedicina - UNIFIP. Email: andrelima1@fiponline.edu.br

RESUMO: A auto-hemoterapia consiste na retirada de sangue venoso e posterior reaplicação intramuscular no próprio doador, sendo frequentemente associada à hipótese de estímulo inespecífico do sistema imunológico. Apesar de seu uso empírico em diferentes contextos clínicos, a técnica permanece controversa devido à escassez de evidências experimentais controladas. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação intramuscular de sangue autólogo sobre parâmetros hematológicos e possíveis alterações clínicas em ratos Wistar. Foram utilizados 18 ratos machos, distribuídos em grupo tratamento (n=9), submetido à aplicação intramuscular de 100 µL de sangue autólogo, e grupo controle (n=9), que recebeu 100 µL de solução fisiológica 0,9% como placebo. Foram realizados hemogramas nos dias 0 (D0) e 7 (D7), além de monitoramento clínico-comportamental 5, 24 e 48 horas após aplicação. As análises estatísticas foram realizadas utilizando teste t pareado para comparação intragrupo e teste t não pareado para comparação entre grupos e deltas. Observou-

se redução significativa dos parâmetros da série vermelha em ambos os grupos entre D0 e D7, sem diferença significativa entre os deltas. Não houve alterações significativas na contagem total de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos, sugerindo ausência de ativação inflamatória sistêmica evidente no período avaliado. Houve diferença significativa na variação dos eosinófilos entre os grupos, embora esse achado deva ser interpretado com cautela devido à variabilidade fisiológica e diferença basal inicial. As plaquetas apresentaram tendência de aumento no D7, sem diferença significativa entre os deltas. Não foram observados sinais clínicos relevantes no local de aplicação do sangue ou placebo. Conclui-se que, nas condições experimentais adotadas, a aplicação intramuscular de sangue autólogo não induziu resposta imunológica sistêmica detectável por hemograma em ratos Wistar até o sétimo dia após a intervenção.

Palavras-chave: Auto-hemoterapia. Sangue autólogo. Hemograma. Leucócitos. Ratos Wista.

ABSTRACT: Autohemotherapy consists of withdrawing venous blood and subsequently reinjecting it intramuscularly into the same donor, and it is often associated with the hypothesis of nonspecific stimulation of the immune system. Despite its empirical use in different clinical settings, the technique remains controversial due to the lack of controlled experimental evidence. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of intramuscular autologous blood injection on hematological parameters and possible clinical changes in Wistar rats. Eighteen male rats were used and allocated into a treatment group (n=9), which received an intramuscular injection of 100 µL of autologous blood, and a control group (n=9), which received 100 µL of 0.9% saline solution as placebo. Complete blood counts were performed on days 0 (D0) and 7 (D7), and clinical-behavioral monitoring was conducted 5, 24, and 48 hours after injection. Statistical analyses were performed using paired t-tests for intragroup comparisons and unpaired t-tests for intergroup comparisons and delta values. A significant reduction in red blood cell parameters was observed in both groups between D0 and D7, with no significant differences between delta values. No significant changes were observed in total leukocyte count, neutrophils, lymphocytes, or monocytes, suggesting the absence of evident systemic inflammatory activation during the evaluated period. A significant difference was found in eosinophil variation between groups; however, this finding should be interpreted with caution due to physiological variability and baseline differences. Platelet counts showed an increasing trend at D7, with no significant differences between delta values. No relevant clinical signs were observed at the injection site in either the autologous blood or placebo groups. In conclusion, under the experimental conditions adopted, intramuscular autologous blood injection did not induce a systemic immune response detectable by complete blood count in Wistar rats up to seven days after intervention.

Keywords: Autohemotherapy. Autologous blood. Complete blood count. Leukocytes. Wistar rats.

RESUMEN:

La autohemoterapia consiste en la extracción de sangre venosa y su posterior re-aplicación intramuscular en el propio donante, siendo frecuentemente asociada a la hipótesis de un estímulo inespecífico del sistema inmunológico. A pesar de su uso empírico en diferentes contextos clínicos, la técnica sigue siendo controvertida debido a la escasez de evidencias experimentales controladas. Así,

el presente estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de la aplicación intramuscular de sangre autóloga sobre parámetros hematológicos y posibles alteraciones clínicas en ratas Wistar. Se utilizaron 18 ratas macho, distribuidas en un grupo tratamiento (n=9), sometido a la aplicación intramuscular de 100 µL de sangre autóloga, y un grupo control (n=9), que recibió 100 µL de solución fisiológica al 0,9% como placebo. Se realizaron hemogramas en los días 0 (D0) y 7 (D7), además de un monitoreo clínico-conductual a las 5, 24 y 48 horas posteriores a la aplicación. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando la prueba t pareada para comparación intragrupo y la prueba t no pareada para comparación entre grupos y deltas. Se observó una reducción significativa de los parámetros de la serie roja en ambos grupos entre D0 y D7, sin diferencia significativa entre los deltas. No se observaron alteraciones significativas en el recuento total de leucocitos, neutrófilos, linfocitos y monocitos, lo que sugiere ausencia de activación inflamatoria sistémica evidente en el período evaluado. Hubo diferencia significativa en la variación de eosinófilos entre los grupos, aunque este hallazgo debe interpretarse con cautela debido a la variabilidad fisiológica y a la diferencia basal inicial. Las plaquetas presentaron una tendencia al aumento en D7, sin diferencia significativa entre los deltas. No se observaron signos clínicos relevantes en el sitio de aplicación de la sangre o del placebo. Se concluye que, en las condiciones experimentales adoptadas, la aplicación intramuscular de sangre autóloga no indujo una respuesta inmunológica sistémica detectable mediante hemograma en ratas Wistar hasta el séptimo día después de la intervención.

Palabras clave: Autohemoterapia. Sangre autóloga. Hemograma. Leucocitos. Ratas Wistar.

INTRODUÇÃO

A busca por terapias alternativas e complementares tem se intensificado nas últimas décadas, refletindo a crescente valorização de práticas integrativas no campo da saúde. Esse movimento está associado tanto às limitações de acesso a determinados tratamentos convencionais quanto à procura por abordagens consideradas menos invasivas. Nesse contexto, a auto-hemoterapia destaca-se como uma técnica controversa, amplamente discutida em diferentes cenários assistenciais e científicos (Moura, 2004).

A auto-hemoterapia é descrita como uma técnica capaz de estimular o sistema imunológico, sendo tradicionalmente associada a um estímulo proteico inespecífico (Moura, 2004). Atualmente, essa proposta tem sido interpretada sob a perspectiva da indução de uma resposta inflamatória inespecífica, mediada pela ativação da imunidade inata. Nessa perspectiva, pressupõe-se que a introdução do sangue autólogo no tecido muscular possa atuar como estímulo endógeno capaz de desencadear um processo inflamatório local, com possíveis repercussões sistêmicas decorrentes da ativação de mecanismos imunológicos. O primeiro registro formal da prática remonta ao ano de 1936, quando Mettenleiter descreveu a utilização do sangue autólogo como estratégia auxiliar no tratamento de processos infecciosos (Mettenleiter, 1936). Até a década de 1940, a técnica foi empregada em diferentes contextos clínicos, sendo progressivamente substituída pelo desenvolvimento de imunomoduladores farmacológicos e pelo avanço da indústria farmacêutica (Ferreira, 2016).

Sob o ponto de vista fisiológico, postula-se que a aplicação intramuscular do sangue autólogo possa promover ativação do Sistema Mononuclear Fagocitário (SMF), especialmente dos macrófagos, células fundamentais na resposta imune inata. A presença de componentes celulares e plasmáticos no tecido muscular pode induzir liberação de citocinas pró-inflamatórias, recrutamento leucocitário e amplificação da resposta imunológica sistêmica. Moura (2004) descreve que essa ativação pode atingir níveis até quatro vezes superiores aos basais nos primeiros cinco dias após a aplicação, mantendo-se elevada por aproximadamente sete dias. Contudo, apesar da plausibilidade biológica do mecanismo proposto, observa-se carência de ensaios experimentais controlados capazes de confirmar tais efeitos de forma conclusiva.

O interesse renovado pela auto-hemoterapia está associado a relatos clínicos que apontam possíveis benefícios em doenças infecciosas, autoimunes e dermatológicas (Guimarães; Martins, 2020). Entretanto, a literatura científica apresenta resultados divergentes. Estudos experimentais conduzidos em modelos animais, como ratos Wistar, demonstram tanto

indícios de modulação imunológica quanto evidências de alterações teciduais decorrentes do procedimento (Silva; Mendes, 2019). De modo semelhante, Almeida et al. (2017) relatam modificações na resposta imune, embora ainda não haja consenso quanto à eficácia clínica ou à segurança da técnica em humanos.

Atualmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Conselho Federal de Medicina (CFM) não reconhecem a auto-hemoterapia como prática terapêutica validada, fundamentando-se na ausência de evidências científicas indexadas que comprovem sua eficácia e segurança (ANVISA, 2017). Tal posicionamento institucional reforça a necessidade de investigações experimentais rigorosas que permitam avaliar, de forma sistemática, os efeitos biológicos e os possíveis riscos associados ao procedimento. A relevância da presente investigação reside na escassez de estudos experimentais controlados e metodologicamente robustos acerca da auto-hemoterapia, uma vez que parcela significativa das publicações disponíveis consiste em relatos de caso ou séries observacionais, limitando a generalização dos achados.

Considerando a persistência do uso empírico da técnica e a ampla circulação de informações não respaldadas por evidências científicas, torna-se necessária a condução de estudo experimental capaz de analisar, sob condições controladas, seus efeitos imunológicos, histológicos e comportamentais. A utilização de modelo animal permite maior controle das variáveis biológicas e experimentais, contribuindo para a análise de segurança do procedimento e para a produção de dados com maior rigor metodológico.

Diante do exposto, o objetivo geral deste estudo foi avaliar os efeitos da auto-hemoterapia sobre as respostas imunológicas em modelo experimental com ratos Wistar. Como objetivos específicos, buscou-se: analisar a resposta imunológica por meio de exames hematológicos; e investigar a ocorrência de efeitos adversos e possíveis alterações comportamentais nos animais submetidos ao procedimento experimental.

METODOLOGIA

O projeto de pesquisa foi desenvolvido em parceria com a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), na qual foi submetido o referido projeto para análise e apreciação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), do Centro de Formação de Professores (CEUA/CFP/UFCG), sendo aprovado conforme certidão contida no processo SEI/UFCG nº 23096.040552/2025-09. O estudo foi conduzido de acordo com os princípios de bem-estar animal e em conformidade com as normas vigentes do Conselho Nacional de Controle de

Experimentação Animal (CONCEA). Toda a equipe envolvida no manejo dos animais possuía capacitação para atuação em experimentação animal, conforme estabelece a legislação brasileira (Brasil, 2021).

O estudo adotou delineamento experimental controlado utilizando 18 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, com idade aproximada de 120 dias e peso variando de 445 a 590 g, provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Federal de Pernambuco (CEBIO/UFPE). Os animais foram distribuídos em dois grupos: grupo teste (n = 9), submetido à aplicação de 100µL de sangue autólogo por via intramuscular, e grupo controle (n = 9), que recebeu 100µL solução fisiológica a 0,9% intramuscular como placebo. O experimento durou 7 dias, compreendidos entre o dia 0 (D0) e dia 7 (D7) antes e após as aplicações do sangue autólogo ou placebo, respectivamente.

Antes do início do experimento, os animais permaneceram em quarentena por 15 dias e mais 15 dias de aclimatação na sala de experimentação do biotério da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Os animais foram alojados em número de três em caixa de polipropileno com dimensões de 41 cm x 34 cm x 16 cm, forradas com serragem de pinus tratada (Figura 1).

Figura 1. Ratos Wistar alojados em grupos de três, em caixas de polipropileno forrada com serragem de pinus.



Fonte: Os autores

Durante todo o período experimental, os ratos foram mantidos ambiente com temperatura controlada (22 ± 2 °C), ciclo claro/escuro de 12 horas e umidade relativa entre 40% e 60%. A alimentação consistiu em ração balanceada e água disponibilizadas ad libitum. Em dias alternados, as caixas eram trocadas por outras limpas e higienizadas, e nesse mesmo momento eram reabastecidos os bebedouros e comedouros.

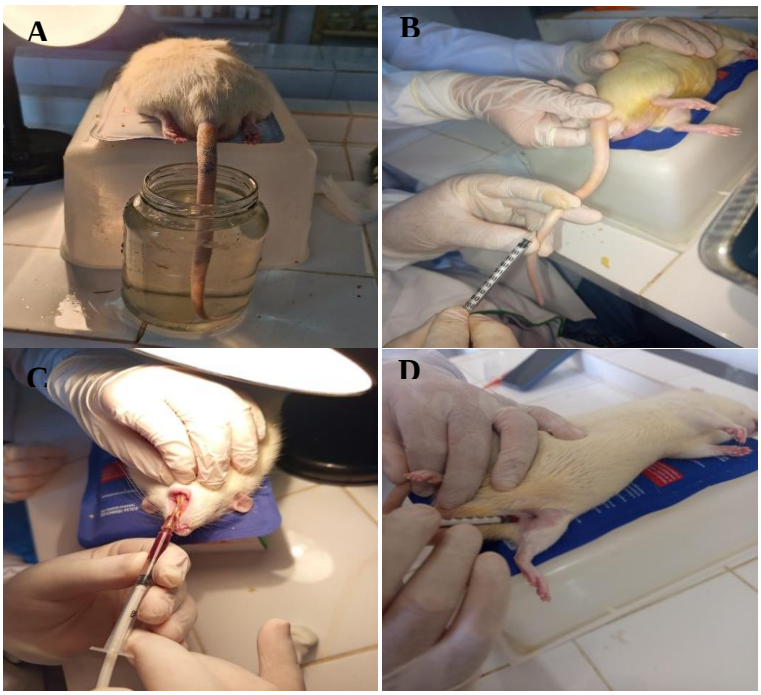
No início do experimento (D0) os animais foram distribuídos aleatoriamente entre os dois grupos por meio de sorteio, pesados e identificados individualmente com caneta do tipo marcador permanente atóxico na base da cauda, utilizando como identificação a letra inicial de cada grupo (“t” para grupo teste e “c” para controle) e um número sequencial de 01 a 09 (por exemplo: T-01, C-01). Coletas de sangue foram realizadas em todos os animais por meio da veia lateral da cauda ou veia gengival. Para a realização do procedimento, os animais foram previamente anestesiados por meio da administração de xilazina 2% (5 mg/kg) associada à cetamina 10% (80 mg/kg) por via intraperitoneal, protocolo anestésico considerado seguro para roedores de laboratório (Ibanes et al., 2013; Ong; Rodrigues, 2013). Após a indução anestésica, os animais eram colocados sobre uma bolsa térmica aquecida (35 a 38ºC) e a cauda foi submetida à imersão em água morna (38 a 39ºC) para favorecer a dilatação das veias (Figura 2A) e facilitar a coleta (Souza, 2022). Em seguida, aproximadamente 0,6 a 1,0mL de sangue foi coletado da veia lateral da cauda (Figura 2B) utilizando agulha de calibre 27G. Em caso de falha na coleta por essa via após três tentativas, a veia gengival foi utilizada (Figura 2C).

Nos animais do grupo teste, uma alíquota de 100µL do próprio sangue coletado foi imediatamente aplicada por via intramuscular no músculo quadríceps da coxa direita (Figura 2D), após tricotomia e antissepsia local, caracterizando o procedimento de auto-hemoterapia. Nos animais do grupo controle, foi realizada aplicação intramuscular de 100µL de solução fisiológica a 0,9% no mesmo local anatômico e após o mesmo procedimento antisséptico. Para ambos os grupos, uma alíquota do sangue coletado foi acondicionado em tubos de 0,5mL contendo anticoagulante EDTA, e posteriormente enviados ao Laboratório de Análises Clínicas do Centro Universitário de Patos (Biolab/Unifip) para realização dos exames hematológicos.

Do período compreendido entre D0 e D7 os animais foram monitorados quanto a possíveis alterações comportamentais e sinais indicativos de dor ou desconforto após os procedimentos. As observações foram realizadas por cinco minutos, após colocar os animais sobre uma bancada, nos intervalos de tempo de 4 a 5 horas (momento aproximado da recuperação anestésica), 24 e 48 após as aplicações. O monitoramento compreendeu avaliação dos seguintes indicadores de alterações clínicas: peso (ante e após o procedimento), presença de edema e/ou irritação no local da aplicação, vocalização, postura curvada, automutilação,

alterações na respiração e na mobilidade, aparência da pelagem (eriçada, emaranhada), espasmos ou tremores, comportamento compulsivo, movimentos repetitivos ou esteriotipados (Stasiak *et al.*, 2003; Turner; Pang; Lofgren, 2019).

Figura 2. Aquecimento da cauda (A), coleta de sangue pela punção da veia lateral da cauda (B) e veia gengival (C) e aplicação de sangue



Fonte: Os autores

No D7, ao final do período experimental, os animais foram novamente pesados e submetidos à eutanásia por meio de sobredosagem anestésica (xilazina 15mg/kg + cetamina 240mg/kg), seguida de punção cardíaca para coleta final de sangue. Das amostras sanguíneas coletadas de cada animal no D7, uma alíquota foi acondicionada em tubos de 0,5mL contendo EDTA e destinadas à realização exames hematológicos.

Os exames hematológicos foram realizados nos momentos D0 (antes do tratamento) e D7 (após o tratamento) em ambos os grupos. Para isso, o sangue coletado em tubos com EDTA foi avaliado em analisador hematológico automático (HEMATOCLIN 3.0, Bioclin®) para obtenção da contagem total de leucócitos, hemácias e plaquetas, além da dosagem de hemoglobina e do hematócrito. Esfregaços sanguíneos em lâminas foram confeccionados e corados pela coloração de Wright para avaliar a morfologia celular e a contagem diferencial de leucócitos (Messias *et al.*, 2017).

As análises estatísticas foram realizadas no software R versão 4.3.1 (R Development Core Team, 2023). Inicialmente, a normalidade das distribuições foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, confirmando distribuição normal para todas as variáveis ($p > 0.05$). Para avaliar

a variação dos parâmetros avaliados dentro de cada grupo, aplicou-se o teste t pareado comparando os valores do D0 e D7. A comparação entre os grupos tratamento (sangue) e controle (solução fisiológica) foi realizada por meio do teste t não-pareado aplicado entre os grupos no D0 e D7 e a diferença entre os deltas individuais (Δ = valor no D7 - valor no D0, para cada grupo). Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão, e o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0.05$) para todas as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos da aplicação intramuscular de sangue autólogo em ratos Wistar como modelo experimental, com o objetivo de investigar se o procedimento seria capaz de estimular o sistema imunológico de forma sistêmica. A hipótese central baseou-se na possibilidade de que a introdução de sangue autólogo no tecido muscular pudesse atuar como estímulo inflamatório estéril, capaz de ativar mecanismos imunes por meio do reconhecimento de sinais de dano tecidual (Rock et al., 2010; Zhao et al., 2022). Para isso, foram comparados parâmetros hematológicos e comportamentais/clínicos entre dois grupos experimentais (tratamento e controle), avaliados no dia 0 (D0) e no dia 7 (D7) após a intervenção.

No que se refere à série vermelha, observou-se redução significativa dos parâmetros eritrocitários em ambos os grupos entre D0 e D7. A contagem de eritrócitos, os níveis de hemoglobina e o hematócrito apresentaram diminuição estatisticamente significativa ao longo do período experimental, sugerindo uma tendência geral de queda da massa eritrocitária independentemente do tratamento aplicado. Embora tenha sido identificada diferença significativa entre os grupos no D0 para eritrócitos, essa diferença não se manteve no D7, e a comparação entre os deltas não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre tratamento e controle ($p=0.908$), conforme observado na tabela 1.

Esses achados indicam que as alterações observadas no hemograma não podem ser atribuídas especificamente à aplicação do sangue autólogo. É plausível que essa redução esteja relacionada a fatores comuns ao experimento, como coletas seriadas de sangue, que podem induzir diminuição transitória da massa eritrocitária, especialmente em pequenos roedores, caso o volume coletado represente proporção relevante do volume sanguíneo total (Turner et al., 2011). Além disso, alterações relacionadas ao estresse experimental, uso de anestésicos e ao manejo podem influenciar parâmetros hematológicos, interferindo na estabilidade fisiológica dos animais e contribuindo para variações inespecíficas nos indicadores eritrocitários (Festing; Altman, 2002).

Tabela 1. Média e desvio padrão (DP) dos parâmetros hematológicos e peso de ratos Wistar nos dias 0 (D0) e sete (D7) após aplicação de 100uL de sangue autólogo ou placebo.

Parâmetros avaliados	Grupo (n=9)	D0 (Média ± DP)	D7 (Média ± DP)	p-valor** (intragrupo)	Δ (D7 - D0)	ΔTrat - ΔCtrl	p-valor*
Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu L$)	Tratamento	5,45 ± 1.38	5,29 ± 1,16	0.776	-0,16	-1,03	0.250
	Controle	5,08 ± 0.62	5.94 ± 1.77	0.227	0,86		
	p-valor* (entre grupos)	0.500	0.401				
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu L$)	Tratamento	7.69 ± 0.26	7.21 ± 0.43	0.016	-0,48	-0,02	0.908
	Controle	8.0 ± 0.24	7.54 ± 0.41	0.006	-0,46		
	p-valor* (entre grupos)	0.03	0.139				
Hemoglobina (g/dL)	Tratamento	13.96 ± 0.60	13,03 ± 0,84	0.013	-0,94	0,01	0.976
	Controle	14.28 ± 0.48	13.33 ± 0.55	0.015	-0,95		
	p-valor* (entre grupos)	0.267	0.417				
Hematócrito (%)	Tratamento	41.85 ± 1,93	38.55 ± 2,41	0.007	-3,3	-0,37	0.765
	Controle	42.09 ± 1.26	39,16 ± 1.67	0.01	-2,93		
	p-valor* (entre grupos)	0.775	0.565				
Plaquetas ($\times 10^3/\mu L$)	Tratamento	564,38 ± 139,79	642,25 ± 84,33	0.11	77,88	-81,88	0.237
	Controle	605,63 ± 118,67	765,38 ± 135,28	0.016	159,75		
	p-valor* (entre grupos)	0.535	0.05				
Peso (g)	Tratamento	501,88 ± 42,33	507,13 ± 33.97	0.591	5,25	18,88	0.109
	Controle	507,63 ± 33,07	494 ± 39,05	0.043	-13,63		
	p-valor* (entre grupos)	0.767	0.485				

ΔTrat – Diferença de médias entre o D0 e D7 grupo tratamento; ΔCtrl – Diferença de médias entre D0 e D7 grupo controle. * Teste t não pareado; **Teste t pareado.
Fonte: Os autores

De modo geral, a contagem de leucócitos totais não apresentou alterações significativas ao longo do período experimental em nenhum dos grupos, indicando ausência de resposta leucocitária sistêmica evidente até o sétimo dia após a aplicação (Tabela 1). Esses resultados sugerem que a aplicação intramuscular de sangue autólogo não promoveu aumento mensurável de leucócitos totais em comparação ao placebo. Tal achado pode estar associado ao fato de que processos inflamatórios podem ocorrer de forma predominantemente localizada, sem necessariamente desencadear leucocitose detectável, especialmente quando o estímulo é limitado em magnitude (dose/frequência de aplicação) ou quando o momento da avaliação não coincide com o pico da resposta inflamatória (Rock et al., 2010). A contagem diferencial de leucócitos também não demonstrou alterações significativas intragrupo para neutrófilos, linfócitos e monócitos em nenhum dos grupos, indicando estabilidade desses subtipos celulares entre D0 e D7 (Tabela 2). Esse achado se contrapõe à hipótese de que a inoculação intramuscular de sangue autólogo poderia desencadear recrutamento neutrofílico sistêmico decorrente de lesão tecidual e ativação do complemento, conforme descrito em mecanismos inflamatórios propostos para a auto-hemoterapia (Brito Júnior; Silva; Batista, 2015).

Além disso, observou-se que os neutrófilos apresentaram valores consistentemente mais elevados no grupo controle em ambos os momentos experimentais, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos tanto no D0 quanto no D7, sugerindo que essa discrepância já estava presente antes da intervenção e não foi decorrente do tratamento. Essa diferença basal reforça a importância do controle de variabilidade individual e da homogeneidade inicial entre grupos em estudos com amostras reduzidas, pois diferenças pré-existentes podem limitar a interpretação causal dos efeitos do tratamento (Festing; Altman, 2002).

Ainda de acordo com a tabela 2, para linfócitos e monócitos não foram identificadas diferenças relevantes entre grupos nem variações significativas ao longo do tempo. Em relação aos eosinófilos, foi observado comportamento distinto entre os grupos: enquanto o grupo tratamento apresentou discreta elevação numérica não significativa, o grupo controle apresentou redução significativa entre D0 e D7. Esse padrão resultou em diferença estatisticamente significativa entre os deltas dos grupos ($p=0.005$), indicando que a variação eosinofílica ao longo do período experimental foi diferente entre tratamento e controle. Esse achado deve ser interpretado com cautela, pois eosinófilos podem variar amplamente em resposta a fatores fisiológicos e ambientais, incluindo estresse, alterações hormonais e estímulos inflamatórios inespecíficos (Klion; Nutman, 2004). Além disso, o fato de o grupo controle apresentar valores mais elevados no D0 sugere a existência de diferença basal, o que

Tabela 2. Média e desvio padrão (DP) da contagem diferencial dos leucócitos de ratos Wistar nos dias 0 (D0) e sete (D7) após aplicação de 100uL de sangue autólogo ou placebo.

Parâmetros avaliados	Grupo (n=9)	D0 (Média ± DP)	D7 (Média ± DP)	p-valor** (intragrupo)	Δ (D7 - D0)	ΔTrat - ΔCtrl	p-valor*
Neutrófilos (×10³)	Tratamento	0,56 ± 0,17	0,48 ± 0,11	0.340	-0,08	-0,08	0.615
	Controle	0,98 ± 0,15	0,98 ± 0,26	0.958	0		
	p-valor* (entre grupos)	0.0001	0.0001				
Linfócitos (×10³)	Tratamento	4,52 ± 1,17	4,39 ± 1,17	0.815	-0,13	-0,97	0.222
	Controle	3,75 ± 0,49	4,59 ± 1,54	0.180	0,84		
	p-valor* (entre grupos)	0.117	0.775				
Monócitos (×10³)	Tratamento	0,29 ± 0,16	0,24 ± 0,16	0.376	-0,05	-0,09	0.271
	Controle	0,20 ± 0,17	0,24 ± 0,09	0.510	0,04		
	p-valor* (entre grupos)	0.306	0.897				
Eosinófilos (×10³)	Tratamento	0,08 ± 0,03	0,12 ± 0,06	0.221	0,03	0,1	0.005
	Controle	0,15 ± 0,05	0,08 ± 0,03	0.003	-0,07		
	p-valor* (entre grupos)	0.01	0.145				

ΔTrat – Diferença de médias entre o D0 e D7 grupo tratamento; ΔCtrl – Diferença de médias entre D0 e D7 grupo controle. * Teste t não pareado; **Teste t pareado.
Fonte: Os autores

pode influenciar a análise de variação temporal e reduzir a força de inferência sobre um possível efeito direto do tratamento. Por outro lado, alguns autores sugerem que a auto-hemoterapia poderia atuar na modulação de respostas alérgicas e indução de tolerância imunológica a autoantígenos ou alérgenos, por mecanismos mediados por células apresentadoras de antígeno e linfócitos reguladores, hipótese que poderia, teoricamente, interferir em parâmetros eosinofílicos (Sheikhi; Azarbeig; Karimi, 2013; Zhao et al., 2022).

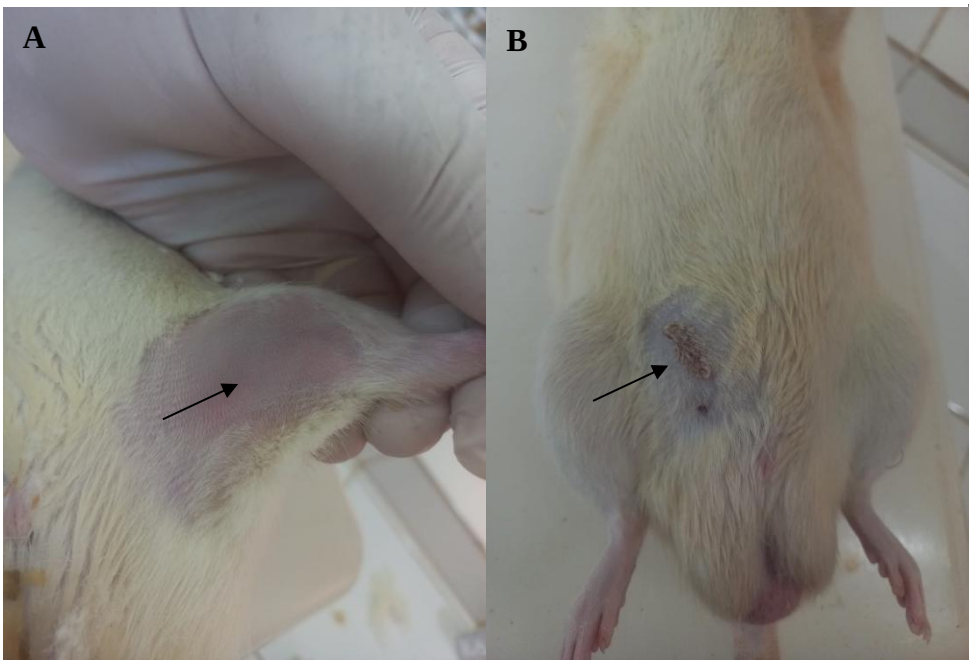
Dessa forma, os resultados do leucograma, incluindo leucócitos totais e contagem diferencial, indicam que a aplicação intramuscular de sangue autólogo não promoveu alterações hematológicas compatíveis com ativação inflamatória sistêmica evidente até o sétimo dia após o procedimento, sendo possível que eventuais efeitos imunomodulatórios tenham ocorrido de forma localizada no tecido muscular ou em momentos mais precoces não contemplados pela janela experimental (Medzhitov, 2008; Rock et al., 2010). Resultados semelhantes foram observados em estudos experimentais prévios, nos quais não foram detectadas alterações hematológicas periféricas relevantes em ratos submetidos à auto-hemoterapia, apesar da presença de infiltrado inflamatório local no músculo (Munari et al., 2012; Ottobelli; Sá; Pavanelli, 2016). Por outro lado, divergindo dos achados do presente estudo, Silva, Souza e Papa-Martins (2009) relataram aumento de células de defesa e melhora cicatricial em ratos Wistar submetidos ao procedimento, evidenciando que os efeitos da técnica podem variar conforme dose, frequência e delineamento experimental.

Em relação às plaquetas, observou-se tendência de aumento em ambos os grupos no D7, com incremento mais evidente no grupo controle. Embora o grupo controle tenha apresentado aumento significativo ao longo do tempo, a comparação entre os deltas não demonstrou diferença estatística significativa entre os grupos (Tabela 1). O comportamento plaquetário observado pode estar relacionado a variações fisiológicas ou a uma resposta inespecífica ao manejo experimental, uma vez que plaquetas desempenham papel relevante não apenas na hemostasia, mas também na resposta inflamatória, podendo ser mobilizadas diante de estímulos como lesão tecidual e processos inflamatórios leves (Weyrich; Zimmerman, 2004; Michelson, 2010).

Com relação à avaliação do comportamento e alterações clínicas visíveis observadas entre 4 a 5 horas (momento aproximado da recuperação anestésica), 24 e 48 horas após as aplicações, nenhum animal apresentou sinais perceptíveis de dor, edema, prurido, desconforto ou outros sinais compatíveis com efeitos adversos associados à aplicação de sangue autólogo ou placebo no local de inoculação (Figura 3A). Entretanto, entre os dias 5 e 6, durante o manejo de trocas de caixas e reabastecimento alimentar, foram detectadas reações locais (nódulos ou

ferimentos) na região de aplicação dos anestésicos (região abdominal inferior direita) em cinco animais (dois do grupo tratamento e três do grupo controle), mas não no local de aplicação do sangue ou placebo (músculo interno da coxa esquerda) (Figura 3B). Esse achado é compatível com relatos prévios de que a auto-hemoterapia, em geral, apresenta baixa ocorrência de efeitos adversos relevantes (Hernández et al., 2001; Borges et al., 2014).

Figura 3 - Local da aplicação do sangue autólogo (A) e do anestésico (B) em um animal do grupo tratado, 6 dias após o procedimento experimental



Fonte: Os autores

Quanto ao peso corporal, observou-se estabilidade no grupo tratamento ao longo do experimento, enquanto o grupo controle apresentou redução significativa entre D0 e D7. Contudo, apesar da diferença numérica observada entre os deltas, a comparação estatística entre os grupos não demonstrou diferença significativa. Esses resultados indicam que as variações no peso dos animais podem estar associadas à resposta individual dos animais ao estresse experimental, não sendo possível atribuir o comportamento observado exclusivamente ao tratamento.

Apesar da relevância do delineamento experimental proposto, algumas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, o tamanho amostral relativamente reduzido (n=9 por grupo) pode limitar o poder estatístico para detectar diferenças pequenas ou moderadas entre os grupos, especialmente em parâmetros hematológicos sujeitos a variabilidade individual. Além disso, o tamanho amostral pode não ter sido suficiente para estabilizar a diferença basal para alguns parâmetros avaliados, como neutrófilos e eosinófilos,

indicando que os grupos não apresentaram completa homogeneidade no D0, o que pode interferir na interpretação causal dos efeitos do tratamento.

Outra limitação relevante refere-se ao período de avaliação escolhido. A resposta inflamatória sistêmica pode ocorrer em fases precoces após estímulo tecidual, especialmente nas primeiras 24 a 72 horas, enquanto a coleta no D7 pode não refletir o pico da resposta imune esperada. Assim, eventuais alterações transitórias no leucograma podem não ter sido captadas pelo intervalo de avaliação adotado. Adicionalmente, o uso de protocolo com dose única (100 uL/animal) pode ter sido insuficiente para estimulo imunológico sistêmico detectável nos exames de rotina, uma vez que os protocolos atuais de auto-hemoterapia apresentam grande variabilidade de doses e frequências, o que pode influenciar os desfechos fisiológicos observados e dificultar comparações diretas entre estudos (Borges et al., 2014).

Adicionalmente, o estudo avaliou predominantemente parâmetros hematológicos a partir do sangue circulante, os quais podem não refletir com precisão processos inflamatórios localizados no tecido muscular. Dessa forma, alterações imunológicas restritas ao local de aplicação poderiam não se manifestar de forma evidente no sangue circulante. A ausência de marcadores inflamatórios adicionais, como citocinas séricas, proteína C reativa ou análise histopatológica do tecido muscular, também limita a caracterização mais detalhada da resposta imunológica local.

Por fim, fatores como estresse de contenção, anestesia e coleta sanguínea podem influenciar parâmetros hematológicos e peso corporal em roedores, podendo atuar como variáveis de confusão. Assim, recomenda-se que estudos futuros utilizem maior número de animais, avaliações em múltiplos tempos pós-intervenção, doses crescentes e múltiplas do sangue autólogo, condicionamento prévio dos animais para coleta sem necessidade de uso de anestésicos injetáveis (ou uso de anestésicos inalatórios) e inclusão de marcadores imunológicos e histológicos complementares, visando melhor compreensão do potencial efeito imunomodulador da aplicação intramuscular de sangue autólogo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo avaliou os efeitos da aplicação intramuscular de sangue autólogo em ratos Wistar, comparando parâmetros hematológicos e achados clínicos com um grupo controle tratado com solução fisiológica. Os resultados demonstraram que a auto-hemoterapia, na dose única de 100 µL e no período de avaliação de sete dias, não promoveu alterações compatíveis com ativação imunológica sistêmica detectável por meio do hemograma. A contagem total de leucócitos e a maioria das subpopulações leucocitárias permaneceram estáveis ao longo do experimento, sugerindo ausência de resposta inflamatória sistêmica significativa. Do ponto de vista clínico, não foram identificados sinais relevantes de desconforto ou alterações no local de aplicação do sangue autólogo ou do placebo, sugerindo boa tolerabilidade do procedimento no modelo utilizado.

Recomenda-se que estudos futuros incluam maior número amostral, avaliações em tempos múltiplos, protocolos com aplicações repetidas e diferentes doses, além da inclusão de marcadores inflamatórios adicionais e análises histopatológicas, a fim de investigar possíveis respostas locais e mecanismos imunomodulatórios não detectados pelo hemograma convencional.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. C. et al. Efeitos imunológicos da auto-hemoterapia em modelo experimental murino. *Revista Brasileira de Pesquisa Clínica*, v. 9, n. 2, p. 85–92, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica nº 6/2017. Posicionamento da Anvisa a respeito da prática da Auto-Hemoterapia. Disponível em: https://cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/202005/14065350-nota-tecnica-n-06-de-2017.pdf. Acesso em: 11 fev. 2025.

BORGES, O. M. M. et al. Auto-hemoterapia, uma nova ou antiga alternativa terapêutica? Revisão de literatura. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 12, n. 39, p. 32-40. 2014.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. **Resolução Normativa nº 49**, de 07 de maio de 2021. Disponível em: https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-concea/mcti-n-49-de-7-de-maio-de-2021-318712950. Acesso em: 11 mar. 2025.

BRITO JUNIOR, L. C.; SILVA, L. O. S.; BATISTA, F. C. Q. Auto-Hemoterapia: uma revisão da literatura. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 48, n. 4, p. 386-391, 2015.

FERREIRA, L. B. A história da auto-hemoterapia: entre a medicina científica e as práticas populares. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 32, n. 6, p. 1023–1032, 2016.
FESTING, M. F. W.; ALTMAN, D. G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. **ILAR Journal**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 244-258, 2002.

GUIMARÃES, F. A.; MARTINS, L. R. Auto-hemoterapia e imunomodulação: revisão integrativa da literatura científica. *Revista Ciência & Saúde*, v. 6, n. 3, p. 50–59, 2020.

HERNÁNDEZ, M. L. et al. Autohemoterapia: Alternativa eficaz en la patologia autoinmune? **Atencion Primaria**, v. 28, n. 4, p. 291-292, 2001.

IBANES, A. S. et al. A. Effects of autohemotherapy on hematological responses in wistar female rats autohemotherapy in rats. **HealthMED**, v. 7, n. 4, p. 1256-1261, 2013.

KLION, A. D.; NUTMAN, T. B. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, St. Louis, v. 113, n. 1, p. 30-37, 2004.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, London, v. 454, n. 7203, p. 428-435, 2008.

MESSIAS, J. B. et al. Automated method and not automated: the evaluation of hematological parameters of rats. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 24, n. 2, p. 77-80, abr.-jun. 2017. DOI: 10.4322/rbcv.2017.016.

METTENLEITER, M.W. Autohemotransfusion in treventing postoperative lung complications. **American Journal of Surgery**, v. 32, n. 2, p. 321-323. 1936.

MICHELSON, A. D. Platelets. 3. ed. London: Academic Press, 2010.
MOURA, L. Manual da auto-hemoterapia: técnica que ativa o sistema imunológico. 2. ed. Rio de Janeiro: Saúde Integral, 2004.

MUNARI, U. B. et al. Análise comparativa entre ultrassom terapêutico e auto-hemoterapia no tratamento de lesão muscular em modelo animal. **Fisioterapia Brasil**, v. 13, n. 5, p. 371-374, 2012. DOI: 10.33233/fb_v13i5.568.

ONG, F. M. P.; RODRIGUES, L. D. Seção de Experimentação. *In*: NEVES, et al. (org.). **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013.

OTTOBELLI, G. A.; SA, A. R. N. D.; PAVANELLI, M. F. Auto-hemoterapia: alterações hematológicas e histológicas em ratos wistar. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 34, n. 1, p. 33-37, 2016.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2023. Disponível em: https://www.R-project.org/.

ROCK, K. L. et al. The sterile inflammatory response. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 28, p. 321-342, 2010.

SHEIKHI, A.; AZARBEIG, M.; KARIMI, H. Autohemotherapy in Chronic Urticaria: What Could Be the Autoreactive Factors and Curative Mechanisms?. **Annals of Dermatology**, v. 26, n. 4, p. 526-527, 2014. DOI: 10.5021/ad.2014.26.4.526.

SILVA, C. H.; SOUZA, L. J.; PAPA-MARTINS, M. Avaliação dos efeitos da auto-hemoterapia sobre a cicatrização e presença de leucócitos séricos em ratos wistar. **Revista Eletrônica de Enfermagem do Unieuro**, v. 2, n. 1, p. 39-57, 2009.

SILVA, T. C.; MENDES, A. R. Auto-hemoterapia: uma prática sem comprovação científica. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 76, n. 4, p. 325–330, 2019.

SOUZA, V. N. Métodos de administração e coleta das amostras biológicas mais utilizadas na experimentação animal. *In:* LIRA, E. C. (org.). **Bioética e manejo de animais de laboratório.** Ponta Grossa - PR: Atena, 2022. ISBN 978-65-258-0130-8. DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.308221909.

STASIAK, K. L. et al. Species-specific assessment of pain in laboratory animals. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 42, n. 4, p. 13-20, 2003.

TURNER, P. V.; PANG, D. S.; LOFGREN, J. L. A Review of Pain Assessment Methods in Laboratory Rodents. **Comparative Medicine**, v. 69, n. 6, p. 451-467, 2019. DOI: 10.30802/AALAS-CM-19-000042.

TURNER, P. V. et al. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 50, n. 5, p. 600-613, 2011.

WEYRICH, A. S.; ZIMMERMAN, G. A. Platelets: signaling cells in the immune continuum. **Trends in Immunology**, Cambridge, v. 25, n. 9, p. 489-495, 2004.

ZHAO, B. et al. Successfully treated recalcitrant atopic eczema with acupoint autohemotherapy: A case report and hypothesized mechanism of the therapy, **Journal of Integrative Medicine**, v. 20, n. 2, p. 182-186, 2022. DOI: 10.1016/j.joim.2022.01.003.

ANEXO A: Certidão de Aprovação Comitê de Ética no Uso de Animais

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CNPJ nº 05.055.128/0001-76
COMISSAO DE ETICA NO USO DE ANIMAIS
Rua Sérgio Moreira de Figueiredo s/n - Casas Populares, Cajazeiras, Paraíba., Centro de Formação de Professores-CFP - Bairro Casas Populares, Cajazeiras/PB, CEP

CERTIDÃO

Processo nº 23096.040552/2025-09

Certifico para os devidos fins, que o processo 23096.040552/2025-09, tendo como interessado o servidor Clécio Henrique Limeira, pesquisador responsável pelo projeto intitulado **"POTENCIAL DO SANGUE AUTÓLOGO COMO ESTIMULANTE IMUNOLÓGICO EM MODELO ANIMAL: AVALIAÇÃO DO PERFIL HEMATOLÓGICO EM RATOS WISTAR "** foi aprovado em reunião ordinária realizada no dia 11 de setembro de 2025 pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, do Centro de Formação de Professores - Campus Cajazeiras, da Universidade Federal de Campina Grande, com base no parecer FAVORÁVEL da conselheira Letícia de Carvalho Benitez.

Para o experimento o pesquisador necessitará de 24 ratos da linhagem Wistar, machos, preferencialmente adultos (300 a 350 g), que terão como origem o CBIO/UFPE e como destino o biotério do CFP/UFCG, considerando que esse último não tem disponibilidade de animais com as características requeridas pelo pesquisado.

Documento assinado eletronicamente por **ANDREZA GUEDES BARBOSA RAMOS, COORDENADOR(A)**, em 19/11/2025, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade, informando o código verificador **6077063** e o código CRC **E767D8FC**.

Referência: Processo nº 23096.040552/2025-09 SEI nº 6077063

ANEXO B: Instruções para Autores da Revista COOPEX

Condições para submissão

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

- A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao editor".
- O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.
- URLs para as referências foram informadas quando possível.
- 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.
- O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na página Sobre a Revista.

Diretrizes para Autores

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.

- Insira no sistema todos os autores do artigo. Não será permitido adicionar autores após a submissão nem ao longo do processo de revisão ou edição do artigo.
- Certificar-se da originalidade e ineditismo da submissão, ou seja, o trabalho não pode ter sido publicado anteriormente e/ ou ser submetido simultaneamente a outro periódico;
- O trabalho está alinhado às áreas temáticas e ao escopo da revista;
- O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos nos Critérios para publicação.

Critérios para publicação:

1. O corpo do texto. Os textos devem ter no máximo 6 (seis) autores, fonte Times New Roman 12, justificado e espaçamento 1,5. Recuo de parágrafo no texto de 1,25 cm. As

margens devem ter 2,5 cm à direita, esquerda, superior e inferior. Deixar uma linha em branco antes de um subtítulo (tamanho 12, espaçamento 1,5). O subtítulo deve estar em negrito e sem recuo.

Artigos originais, de revisão e relatos de experiência devem ter uma extensão mínima de 10 (dez) e máxima de 20 (vinte) páginas. Devem ter no máximo 6 (seis) autores.

As **citações** diretas longas, com mais de três linhas, devem estar em parágrafo destacado do texto, com recuo de 4 cm da margem esquerda, alinhamento justificado, em espaço simples entre linhas, espaçamento antes e depois 10, fonte Times New Roman, tamanho 10 sem aspas e sem itálico, seguida da autoria entre parênteses (Sobrenome do autor, ano, página (com espaço entre o ponto e o número da página), com ponto final depois dos parênteses.

As citações diretas, no texto, de até três linhas, devem ser contidas entre “aspas” duplas e incorporadas ao texto, sem itálico (ou qualquer outro destaque), seguidas da autoria entre parênteses (Sobrenome do autor, ano, página (com espaço entre o ponto e o número da página)).

Caso a identificação do autor seja feita no “corpo do texto”, usa-se, por exemplo: Para Autor1 e Autor2 (2000, p. 43), “[...] os estudantes ...”.

A citação indireta é uma construção textual feita a partir da ideia ou da opinião de um autor em uma obra que foi consultada. Nesse caso, a indicação da página consultada é opcional, mas o ano de publicação da obra é obrigatório e deve estar entre parênteses.

Quando a citação indireta é feita no corpo do texto somente a primeira letra do sobrenome dos autores em maiúscula, com o ano entre parênteses; sem colocar o número de página, por exemplo: na opinião de Autor1 e Autor2 (2000) [...].

Nunca termine uma seção com citação longa. Procure continuar com o texto de forma a estabelecer uma ligação com o item/seção seguinte.

A paginação deverá ser no lado superior direito, com a página capitular sem numeração.

2. Os artigos científicos deverão conter: Título centralizado a direita, nos idiomas: Português, Inglês e espanhol, seguindo esse mesmo critério, o Resumo, no qual deverá conter parágrafo único (100-800 palavras); espaço simples e justificado. Palavras-chave (três a cinco); Abstract: Keywords; Introdução com Revisão de Literatura;

Material e Métodos; Resultados e Discussão; Considerações finais e Referências. Se necessário, fazer nota de rodapé junto ao título com Agradecimento (s), Apoios e outras Fontes Financiadoras (quando houver).

3. Os nomes dos(as) autores(as) deverão ser colocados por extenso (fonte 12), à direita logo abaixo do título, seguidos da *Formação Principal. IES. E-mail. Orcid.*
4. Logo em seguida abaixo dos nomes dos autores, onde tem*:* Autor correspondente: Nome do autor e e-mail. Colocar nesse campo o nome do autor que fez o envio do artigo, com o respectivo e-mail para contato.

Tipos de documentos aceitos para publicação

A Revista COOPEX aceita para publicação:

- Artigos Originais;
- Revisões Sistemáticas, Integrativas, de Escopo e Bibliométrica;
- Estudos Documentais;
- Estudos de Caso.

NÃO PUBLICAMOS REVISÃO NARRATIVA OU TRADICIONAL

Critérios a serem considerados para avaliação:

- Qualidade da redação e domínio da língua;
- Qualidade no conteúdo apresentado: clareza na exposição das ideias, articulação entre as proposições, explicações claras para o leitor;
- Referencial teórico-conceitual: deve refletir o conhecimento na área determinada e ser atualizada;
- Estrutura do texto: deve conter introdução/apresentação; *f*undamentação teórica e desenvolvimento; discussão; resultados/considerações finais;
- Tema: deve ser relevante e pertinente ao contexto abordado, ao momento e à pesquisa desenvolvida;
- Avaliação preliminar pelo Conselho Editorial, o qual será examinado a adequação do trabalho, à linha editorial da revista, e a área temática;
- Deverá ser analisada a Revisão gramatical e ortográfica, bem como bibliográfica.

A estruturação do documento deverá atender ao TEMPLATE, na aba modelo de artigo

Artigos

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.

- Insira no sistema todos os autores do artigo. Não será permitido adicionar autores após a submissão nem ao longo do processo de revisão ou edição do artigo.
- Certificar-se da originalidade e ineditismo da submissão, ou seja, o trabalho não pode ter sido publicado anteriormente e/ ou ser submetido simultaneamente a outro periódico;
- O trabalho está alinhado às áreas temáticas e ao escopo da revista;
- O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos nos Critérios para publicação.

Critérios para publicação:

1. O corpo do texto. Os textos devem ter no máximo 6 (seis) autores, fonte Times New Roman 12, justificado e espaçamento 1,5. Recuo de parágrafo no texto de 1,25 cm. As margens devem ter 2,5 cm à direita, esquerda, superior e inferior. Deixar uma linha em branco antes de um subtítulo (tamanho 12, espaçamento 1,5). O subtítulo deve estar em negrito e sem recuo.

Artigos originais, de revisão e relatos de experiência devem ter uma extensão mínima de 10 (dez) e máxima de 20 (vinte) páginas. Devem ter no máximo 6 (seis) autores.

As **citações** diretas longas, com mais de três linhas, devem estar em parágrafo destacado do texto, com recuo de 4 cm da margem esquerda, alinhamento justificado, em espaço simples entre linhas, espaçamento antes e depois 10, fonte Times New Roman, tamanho 10 sem aspas e sem itálico, seguida da autoria entre parênteses (Sobrenome do autor, ano, página (com espaço entre o ponto e o número da página), com ponto final depois dos parênteses.

As citações diretas, no texto, de até três linhas, devem ser contidas entre “aspas” duplas e incorporadas ao texto, sem itálico (ou qualquer outro destaque), seguidas da autoria entre parênteses (Sobrenome do autor, ano, página (com espaço entre o ponto e o número da página)).

Caso a identificação do autor seja feita no “corpo do texto”, usa-se, por exemplo: Para Autor1 e Autor2 (2000, p. 43), “[...] os estudantes ...”.

A citação indireta é uma construção textual feita a partir da ideia ou da opinião de um autor em uma obra que foi consultada. Nesse caso, a indicação da página consultada é opcional, mas o ano de publicação da obra é obrigatório e deve estar entre parênteses.

Quando a citação indireta é feita no corpo do texto somente a primeira letra do sobrenome dos autores em maiúscula, com o ano entre parênteses; sem colocar o número de página, por exemplo: na opinião de Autor1 e Autor2 (2000) [...].

Nunca termine uma seção com citação longa. Procure continuar com o texto de forma a estabelecer uma ligação com o item/seção seguinte.

A paginação deverá ser no lado superior direito, com a página capitular sem numeração.

2. Os artigos científicos deverão conter: Título centralizado a direita, nos idiomas: Português, Inglês e espanhol, seguindo esse mesmo critério, o Resumo, no qual deverá conter parágrafo único (100-800 palavras); espaço simples e justificado. Palavras-chave (três a cinco); Abstract: Keywords; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Considerações finais e Referências. Se necessário, fazer nota de rodapé junto ao título com Agradecimento (s), Apoios e outras Fontes Financiadoras (quando houver).

3. Os nomes dos(as) autores(as) deverão ser colocados por extenso (fonte 12), à direita logo abaixo do título, seguidos da *Formação Principal. IES. E-mail. Orcid.*

4. Logo em seguinda abaixo dos nomes dos autores, onde tem: Autor correspondente: Nome do autor e e-mail. Colocar nesse campo o nome do autor que fez o envio do artigo, com o respectivo e-mail para contato.

Tipos de documentos aceitos para publicação

A Revista COOPEX aceita para publicação:

- Artigos de Revisão Sistemática, Estudos de caso e Revisão Bibliométrica;
- Resumos Simples e Resumos Expandidos.

Critérios a serem considerados para avaliação:

- Qualidade da redação e domínio da língua;
- Qualidade no conteúdo apresentado: clareza na exposição das ideias, articulação entre as proposições, explicações claras para o leitor;
- Referencial teórico-conceitual: deve refletir o conhecimento na área determinada e ser atualizada;
- Estrutura do texto: deve conter introdução/apresentação; *f*undamentação teórica e desenvolvimento; discussão; resultados/considerações finais;
- Tema: deve ser relevante e pertinente ao contexto abordado, ao momento e à pesquisa desenvolvida;

- Avaliação preliminar pelo Conselho Editorial, o qual será examinado a adequação do trabalho, à linha editorial da revista, e a área temática;
- Deverá ser analisada a Revisão gramatical e ortográfica, bem como bibliográfica.

Resumos Expandidos

RESUMOS SIMPLES:

Título e subtítulo (se houver): deve estar na segunda linha da primeira página, em posição centralizada, com tipo de fonte verdana, tamanho 10, em negrito, com todas as letras em maiúsculo e em espaçamento entre linhas 1,5 e possuir no máximo 12 palavras.

Sobre a quantidade dos autores deverá ter no MÁXIMO 6 - COM O ORIENTADOR (caso tenha): o nome do primeiro autor deve vir duas linhas abaixo do título, alinhado à direita, com fonte verdana, tamanho 10, espaçamento simples, com primeira letra de cada nome em maiúscula e o restante em minúsculo. Uma linha abaixo do nome do primeiro autor deve constar o vínculo institucional, contendo nome da instituição, sigla, cidade e país, separados pelo caractere "–", sem aspas. Na linha seguinte ao vínculo institucional deve constar o e-mail do autor. O nome dos demais autores (caso houver) deve constar duas linhas abaixo no nome do primeiro autor, seguido de seu vínculo institucional na linha subsequente ao nome e e-mail na linha seguinte ao vínculo institucional. NÃO devem ser utilizadas ABREVIATURAS nos nomes dos autores.

RESUMO: duas linhas abaixo do nome dos autores, o resumo deve ser na própria língua do trabalho, com no máximo 250-350 palavras. Deve-se utilizar texto com fonte verdana, justificado, tamanho 10. O resumo deve ser apresentado no formato estruturado, contendo os itens: Introdução, Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões.

Palavras-chave: uma linha abaixo do resumo. Deve conter entre três e cinco palavras-chave, no mesmo idioma do trabalho, separadas entre si por ponto e finalizadas também por ponto, fonte verdana, justificado, tamanho 10, com espaçamento entre linhas simples.

RESUMOS EXPANDIDO:

Os RESUMOS EXPANDIDOS deverão obedecer às normas vigentes na NBR 6028:2003 (ABNT), e ressaltar o objetivo, os métodos e os resultados provisórios ou definitivos da pesquisa/ação extensionista.

O título do resumo deverá ser em letras maiúsculas, centralizado e em negrito. O(s) nome(s) do(s) autor(es) será(ão) centralizado(s) na margem direita da folha, e cada participante deve especificar a Instituição da qual faz parte, o curso e o período em nota de rodapé. O resumo terá que conter de 500 a 800 palavras (sem contar título e palavras-chaves), não terá parágrafo e deverá seguir a ordem: INTRODUÇÃO, PROBLEMÁTICA, OBJETIVO, METODOLOGIA, FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA, e CONSIDERAÇÕES FINAIS. Será digitado em fonte *Arial*, tamanho 12, espaço simples. Depois do corpo do resumo, usar espaço duplo e inserir de 3 a 5 palavras-chaves; 3 a 10 referências bibliográficas. O resumo expandido poderá ter 6(seis) autores no máximo, incluindo o orientador.

Declaração de Direito Autoral

Os direitos autorais pertencem aos autores.

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.