



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS URUTAÍ  
DIREÇÃO DE EXTENSÃO  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

## **RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO**

**MELISSA PEREIRA SILVA**

**URUTAÍ, GOIÁS  
2020**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA  
INSTITUTO FEDERAL GOIANO - CAMPUS URUTAÍ  
DIREÇÃO DE EXTENSÃO  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

## **RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO**

(Medicina Preventiva)

Trabalho de conclusão de curso apresentado a curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal Goiano-Campus Urutaí como parte dos requisitos para conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária

**Estagiário:** Melissa Pereira Silva

**Supervisora:** Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Auxiliadora Andrade

**Local:** Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dra. Adriana da Silva Santos

**URUTAÍ, GOIÁS  
2020**

**Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF Goiano**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES  
TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

**Identificação da Produção Técnico-Científica**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese  | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input type="checkbox"/> Dissertação                                 | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação                  | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |   |

Nome Completo do Autor: Melissa Pereira Silva

Matrícula: 2016201201240070

Título do Trabalho: Relatório de estágio curricular/ Resistência a antimicrobianos desenvolvidos por cepa *Escherichia coli* em frangos caipiras.

**Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique: \_\_\_\_\_

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 20/03/2020

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

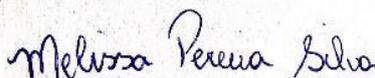
O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

**DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA**

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

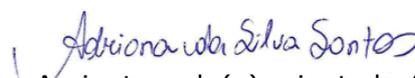
Urutaí, 18/03/2020.

 Local

Data

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

 Assinatura do(a) orientador(a)



**INSTITUTO FEDERAL**  
Goiano  
Câmpus Urutai

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
INSTITUTO FEDERAL GOIANO – Campus Urutai  
Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária

### ATA DE APROVAÇÃO DE TRABALHO DE CURSO

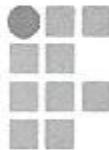
Às 11:45 horas do dia 10 de março de 2020, reuniu-se na sala nº 05 do Prédio de aula da História Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutai, a Banca Examinadora do Trabalho de Curso intitulado "Relatório de Estágio Curricular / Residência de Antimicrobicos nas idiossincrasias por cepas de Escherichia coli em frangos caipiras."

composta pelos professores Adriana de Silva Santos, Carla Britina Broz Daully e Carolina Fonseca Osawa

para a sessão de defesa pública do citado trabalho, requisito parcial para a obtenção do Grau de Bacharelado em Medicina Veterinária. Para fins de comprovação, o aluno (a) Thelissa Verina Silva foi considerado APROVADA (APROVADO ou NÃO APROVADO), por unanimidade, pelos membros da Banca Examinadora.

Assinatura dos membros da Banca Examinadora	Situação (Aprovado ou Não Aprovado)
1. <u>Adriana de Silva Santos</u>	<u>APROVADA</u>
2. <u>Carolina Fonseca Osawa</u>	<u>APROVADA</u>
3. <u>Carla Britina Broz Daully</u>	<u>APROVADA</u>

Urutai-GO, 10 de março de 2020.



**INSTITUTO FEDERAL**  
Goiano

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por toda força transmitida nesses longos seis anos. Por ajudar a tornar realidade um sonho de concluir a graduação em uma instituição federal e por colocar pessoas maravilhosas no meu caminho.

Aos meus pais, Wânia Maria Pereira e Flávio Oliveira da Silva, que colaboraram para que esse sonho se tornasse realidade, em especial à minha mãe que sempre foi minha base, me motivou e apoiou nessa decisão da graduação e sempre que eu pensava em desistir, não deixava. Valeu mãe!

Aos amigos, que são peças-chave nessa trajetória louca com misto de sentimentos. Especialmente à Camila, Alexandre, Gabryella, Gizele, Renato, Gabriel, Naiara, Leonardo e Luís Gustavo “Homer” por me acolherem após a transferência da faculdade e por diminuir toda a tensão da graduação. Obrigada por todo apoio nas piores horas, pelo ombro amigo, pelos puxões de orelha, pelas risadas e ensinamentos.

Ao Instituto Federal Goiano Campus Urutaí, ao seu corpo docente por toda paciência e ensinamentos transmitidos, especialmente à Prof. Maria Angélica, minha maior inspiração. Ela acreditava em mim mais do que eu mesma, segurava minha mão nos momentos instáveis e me dava um norte.

Agradeço à minha namorada, Amanda Mendonça, que surgiu na minha vida no fim da graduação, mas fez toda a diferença nessa reta final. Obrigada por toda paciência, pela cumplicidade, pelos conhecimentos fornecidos e por manter meu equilíbrio emocional.

Por fim, agradeço ao médico veterinário José Antônio que me apresentou à Medicina Veterinária. Mesmo antes da conclusão do ensino médio, me proporcionou estágio para conhecer a área e decidir qual profissão seguir.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR</b> .....	7
<b>1 IDENTIFICAÇÃO</b> .....	7
1.1 Nome do aluno.....	7
1.2 Nome do supervisor.....	7
1.3 Nome do orientador.....	7
<b>2 LOCAL DE ESTÁGIO</b> .....	7
2.1 Nome do local de estágio.....	7
2.2 Localização.....	7
2.3 Justificativa da escolha do campo de estágio.....	5
<b>3 DESCRIÇÃO DO LOCAL E DA ROTINA DE ESTÁGIO</b> .....	8
3.1 Descrição do local do estágio.....	8
3.2 Descrição da rotina do estágio .....	8
3.2.1 Recepção das amostras.....	9
3.2.2 Processamento de amostras.....	9
3.2.3 Necropsia.....	11
3.2.4 Limpeza e esterilização.....	11
3.2.5 Acompanhamento de projetos de pesquisa.....	12
3.2.6 Resumo quantificado das atividades.....	12
<b>4 DIFICULDADES VIVENCIADAS</b> .....	14
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	14
<b>CAPÍTULO II - RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DESENVOLVIDAS POR CEPAS DE <i>Escherichia coli</i> EM FRAGOS CAIPIRAS</b> .....	15
<b>RESUMO</b> .....	15
<b>PALAVRAS-CHAVE</b> .....	15
<b>RESUME</b> .....	15
<b>KEYWORD</b> .....	15
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>RELATO DE CASO</b> .....	16
<b>DISCUSSÃO</b> .....	17
<b>CONCLUSÃO</b> .....	17
<b>REFERÊNCIA</b> .....	18
<b>ANEXO DAS NORMAS DA REVISTA</b> .....	21

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG. Recepção de quatro frascos do tipo Falcon contendo amostras de leite de quatro animais, devidamente numerados.....9
- Figura 2** – Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG; Inoculação de amostras em meio verde brilhante.....10
- Figura 3** – Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: Crescimento de *Salmonella heidelberg* em meio MacConkey.....10
- Figura 4** – Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: procedimento de necropsia em frango caipira com suspeita de Colibacilose.....11
- Figura 5** – Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: Vidrarias embaladas em papel específico, prontas para esterilização em autoclave.....11
- Figura 6** – Tipificação das amostras encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG de 16 de dezembro de 2019 a 06 de março de 2020, elencadas em ordem alfabética.....12
- Figura 7** – Quantitativo de espécies de bactérias identificadas em amostras encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG de 16 de dezembro de 2019 a 06 de março de 2020.....13
- Figura 8** – Principais atividades vinculadas a projetos de pesquisa realizados no Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG de 16 de dezembro de 2019 a 06 de março de 2020, elencadas em ordem.....14

## CAPÍTULO 1

### 1. IDENTIFICAÇÃO

**1.1 Nome do aluno:** Melissa Pereira Silva

**Matrícula:** 2016201201240070

**1.2 Nome do supervisor:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Auxiliadora Andrade. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Minas Gerais (1973) e doutorado em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás (2005). Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Doenças Infecciosas de Animais, atuando principalmente nos seguintes temas: salmonelose aviária, microbiologia, ovos comerciais, desempenho e frangos de corte.

**1.3 Nome do orientador:** Prof<sup>a</sup>. Dra. Adriana da Silva Santos. Possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Goiás (2006), Residência em Patologia Animal pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2008), Mestrado em Ciência Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2010) e Doutorado em Ciência Animal pela Universidade Federal de Goiás (2014). Desde 2013 atua como Docente do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, ministrando disciplinas no curso Técnico em Agropecuária e nos cursos superiores de Licenciatura em Ciências Biológicas e Bacharelado em Medicina Veterinária. Atualmente, participa de projetos nas áreas de medicina veterinária preventiva e ciências ambientais, principalmente na área de resíduos agroindustriais, utilização de plantas do cerrado no controle de doenças em animais domésticos e conservação da fauna do cerrado. Coordenou o curso de Bacharelado em Medicina Veterinária (2014-2016). Orienta alunos de pós-graduação, iniciação científica, extensão, monitorias e estágios.

### 2. LOCAL DE ESTÁGIO

**2.1 Nome do local de estágio:** Laboratório de Bacteriologia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

**2.2 Localização:** Avenida Esperança, S/N, Setor de Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária e Zootecnia, Campus Samambaia, Goiânia, Goiás, Brasil.

**2.3 Justificativa da escolha do campo de estágio:** A escolha do estágio deve-se à oportunidade única de trabalhar com a Prof<sup>a</sup> Dra. Maria Auxiliadora Andrade, renomada

ornitopatologista. Como pretendo trabalhar na área de avicultura e já havia realizado estágios em granjas de frango de corte, o trabalho no laboratório seria essencial para agregar mais conhecimento na área de diagnóstico de doenças infecciosas em aves.

### **3. DESCRIÇÃO DO LOCAL E DA ROTINA DE ESTÁGIO**

#### **3.1 Descrição do local do estágio**

O Setor de Medicina Veterinária Preventiva (SMVP) pertencente ao Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG). O SMVP conta com oito professores doutores que trabalham nas diversas áreas relacionadas à sanidade animal e alguns ainda coordenam laboratórios que oferecem serviços de diagnóstico de doenças infecciosas à comunidade. O Laboratório de Bacteriologia, coordenado pela professora e supervisora de estágio, Dra. Maria Auxiliadora Andrade recebia amostras das 8 às 12h e das 14 às 16:30h.

Estruturalmente, o Laboratório de Bacteriologia era composto por uma recepção de amostras, duas salas de processamento de amostras, uma sala de preparação de meios, uma sala com capela de fluxo, uma sala de esterilização de materiais e anexa a ela uma sala de montagem de materiais, uma sala para estocagem de materiais e vidrarias e uma sala anexa de necropsia.

Na sala de recepção de amostras havia uma mesa com computador para redigir laudos dos exames solicitados. Nas salas de processamento, cinco geladeiras para meios de cultura e testes bioquímico e outra, apenas para bacterioteca, onde se isolam bactérias específicas e as armazenavam. Nessa sala, ainda se observava duas estufas, dois microscópios ópticos, uma mesa central com dois bicos de Bunsen, pia para coloração de Gram e alças de níquel cromo.

A sala de preparação de meios continha balança, micro-ondas e armários para armazenamento de meios sólidos além das vidrarias. A sala da capela era composta apenas por armários que estocavam placas de Petri esterilizadas e a capela de fluxo.

A sala de esterilização de materiais era composta por duas autoclaves, três estufas, duas pias e uma mesa central. Era conectada à sala de montagem de materiais, onde eram embaladas as vidrarias para autoclavagem.

O laboratório contava ainda com uma sala apenas para estoque de meios de cultura e estoque de vidrarias novas embaladas e um corredor com armários que armazenam tubos de viro, materiais para necropsias esterilizados e o freezer para congelamento dos materiais que precisam ser incinerados.

### 3.2 Descrição da rotina do estágio

O estágio curricular ocorreu no período de 16 de dezembro de 2019 à 06 de março de 2020 com carga horária de oito horas diárias de segunda a sexta, contabilizando 420 horas totais.

A oferta de exames bacteriológicos compreendia diferentes áreas da Medicina Veterinária. Diariamente, chegavam amostras de urina, leite, ração, suabes de arrasto de granjas, órgãos de necropsia e também aves para realização da necropsia. Tais amostras eram encaminhadas por médicos veterinários ou proprietários da comunidade e também pelo Hospital Veterinário da UFG. Após o recebimento, as amostras eram processadas para isolamento e identificação por meio da realização de culturas, provas bioquímicas e antibiogramas. As atividades realizadas durante o estágio, serão detalhadas a seguir.

#### 3.2.1 Recepção das amostras

Nesta etapa, cabia ao estagiário fazer a identificação do material. Para isso, colocava-se um número de entrada nas amostras (Figura 1), de acordo com caderno de registro do laboratório. Nesse, eram preenchidos dados como datas de coleta e entrada, exames solicitados e dados pessoas do remetente. Ao final dos exames, o resultado também era colocado nesse caderno.



Figura 1: Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG. Recepção de quatro frascos do tipo Falcon contendo amostras de leite de quatro animais, devidamente numerados.

#### 3.2.2 Processamento de amostra

Posteriormente à identificação, as amostras eram encaminhadas às salas de processamento onde passariam pelas seguintes etapas:

- a) Inoculação em meios de enriquecimento bacteriológico, como o BHI (brain heart infusion), seguida de incubação por 18 a 24h em temperaturas de 35°C a 37°C;
- b) Inoculação em meios específicos para crescimento de bactérias (Figura 2) em incubadora por 18-24h a 35°C a 37°C;
- c) Após crescimento das colônias (Figura 3) realizava-se a coloração de Gram e, posterior a leitura da lâmina, fazia-se o repique para meio Ágar tríplice açúcar ferro (TSI) que era novamente incubado em estufa;
- d) No dia seguinte, as colônias que cresceram no TSI eram testadas por meio de exames bioquímicos e transferidas para placa de antibiograma, sendo utilizados antibióticos solicitados no pedido do exame;
- e) Por fim, realizava-se a leitura dos testes bioquímicos e do antibiograma, para posterior emissão do laudo.

Figura 2: Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: Inoculação de amostras em meio verde brilhante.



Figura 3: Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: Crescimento de *Salmonella heidelberg* em meio MacConkey.



### 3.2.3 Necropsia

O laboratório recebeu várias aves, de diferentes espécies, para investigação diagnóstica por meio de necropsia. Em geral, elas chegavam vivas, eram colocadas em gaiolas próprias na sala de necropsia anexa ao laboratório. Realiza-se a coleta de sangue e posteriormente, a eutanásia seguindo a Resolução Normativa N° 13, 20 de setembro de 2013, seguida de exames macroscópicos e coleta de materiais para cultura e histopatológico (Figura 4). Esse último era enviado para o Setor de Patologia Animal da EVZ/UFG.

Figura 4: Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: procedimento de necropsia em frango caipira com suspeita de Colibacilose.



### 3.2.4 Limpeza e esterilização

As amostras de meio de cultura, eram descartadas e colocadas em baldes de aço inox, que eram levados à autoclave por 25 minutos a temperatura de 121°C. Em seguida, as vidrarias eram lavadas para retirada de excedente e colocadas de molho por 24 horas, em água com solução de hipoclorito e detergente neutro. Após esse período, eram lavadas e colocadas para secagem em bancadas na temperatura ambiente, sendo posteriormente, embaladas em papel específico para autoclavagem (Figura 5).

Figura 5: Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG: Vidrarias embaladas em papel específico, prontas para esterilização em autoclave.



Para os demais materiais, sem meio de cultura, utilizava-se a autoclave por 15 minutos a 121°C. Depois, eram submetidos à secagem em estufas a 60°C por 24 horas, sendo posteriormente, estocadas nos armários.

Já as amostras de aves encaminhadas para necropsia, após exame, eram colocadas em sacos brancos e encaminhadas para os freezers do laboratório para posteriormente serem incineradas.

### 3.2.5 Acompanhamento de projetos de pesquisa

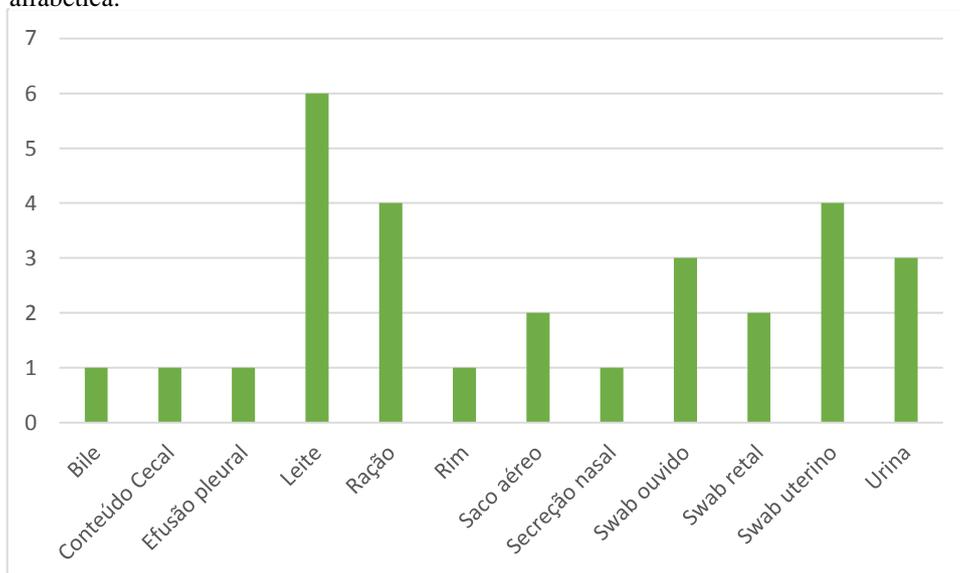
Ainda na rotina do laboratório, eram desenvolvidos projetos de mestrado e doutorado dos quais o estagiário fazia o acompanhamento e auxílio das atividades. No período do estágio, foi possível acompanhar um projeto de doutorado cujo objetivo era avaliar o efeito bactericida de fotossensibilizadores em ovo inoculados com *Salmonella*. Também houve a oportunidade de acompanhar um projeto de mestrado, cujo objetivo era avaliar o ozônio como um possível bactericida.

### 3.3 Resumo quantificado das atividades

Durante esse período de 16 de dezembro de 2019 à 06 de março de 2020 foram submetidas para cultura e antibiograma 31 amostras, 4 necropsias e 2 projetos acompanhados.

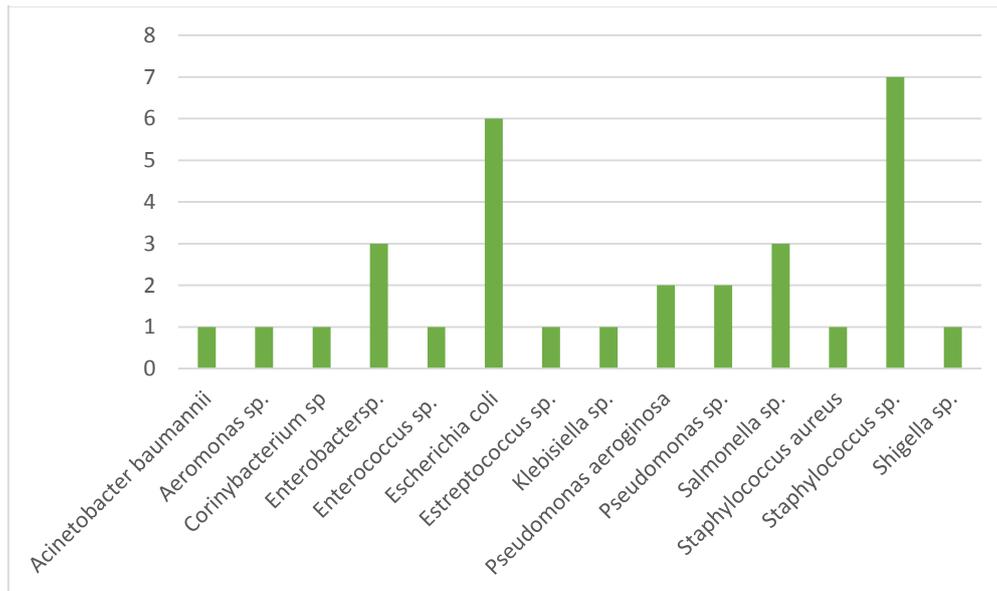
A Figura 6 relaciona os tipos amostrais encaminhadas para cultura e antibiograma.

Figura 6: Tipificação das amostras encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG de 16 de dezembro de 2019 a 06 de março de 2020, elencadas em ordem alfabética.



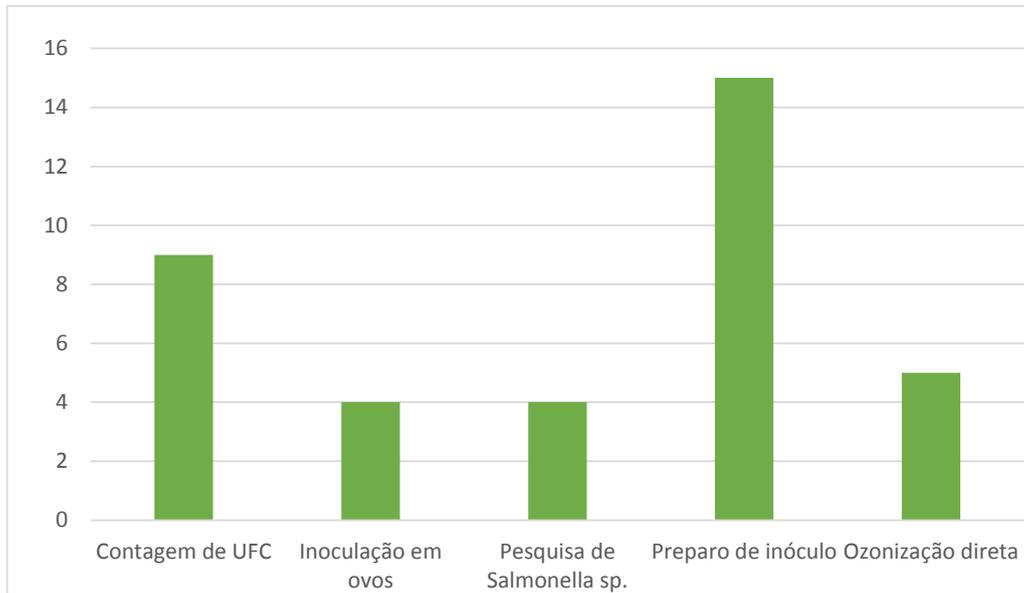
Como resultado do cultivo bacteriano, 31 bactérias foram identificadas, com maior frequência de bactérias do gênero *Staphylococcus* e da espécie *Escherichia coli*, conforme pode ser observado na Figura 7.

Figura 7: Quantitativo de espécies de bactérias identificadas em amostras encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG de 16 de dezembro de 2019 a 06 de março de 2020.



Além do acompanhamento da rotina do laboratório, acompanhou-se o desenvolvimento de projetos de pesquisa de mestrados e doutorados. Durante o acompanhamento, o estagiário realizou inoculação de bactérias em ovos, preparação de inóculo seguindo a escala de MacFarland, contagem de Unidade Formadora de Colônia (UFC) em meios de cultura seletivos como MacConkey e Verde Brilhante, pesquisas de *Salmonella* e ozonização direta em inóculos preparados com bactérias seguindo a escala MacFarland, quantificando as atividades do auxílio de pesquisa na Figura 8.

Figura 8: Principais atividades vinculadas a projetos de pesquisa realizados no Laboratório de Bacteriologia da EVZ/UFG de 16 de dezembro de 2019 a 06 de março de 2020, elencadas em ordem.



#### 4. DIFICULDADES VIVENCIADAS

A falta de aula tanto teórica quanto prática voltada a rotina de laboratório dificultou no início do estágio, pois nas aulas de laboratório durante a graduação, as aulas eram voltadas mais para interpretação de exames voltado para clínica, como hemogramas.

Como o laboratório também era utilizado por residentes e alunos da pós-graduação, os mesmos pegavam exames para rodar, cada um com sua conduta e métodos a seguir, dificultando no início assimilar várias formas de desenvolver os exames.

#### 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do estágio curricular contribuiu para agregar mais conhecimento e conseguir colocar em prática todos os estudos dos cinco anos de graduação. Contribuindo com o discente no seu desenvolvimento pessoal, uma vez que o mesmo sai de sua zona de conforto e agrega também valor na parte de convivência com outros profissionais, que não são de sua área. Além disso, notou-se que a área de laboratório estimula o desenvolvimento do senso crítico em relação a área de clínica, uma vez que ao desenvolver os exames você traça informações dos sinais clínicos e suspeitas que auxiliam para chegar a um laudo.

## CAPÍTULO 2

### RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DESENVOLVIDAS POR CEPAS DE *Escherichia coli* EM FRANGOS CAIPIRAS

#### RESUMO

A produção animal utiliza antibióticos em sua rotina, porém, sua utilização de forma incorreta acaba acarretando o desenvolvimento de bactérias resistentes aos antimicrobianos usados. A *Escherichia coli* é uma bactéria que desencadeia várias infecções, levando prejuízo para as criações. Com isso, a resistência bacteriana é vista como um problema mundial de saúde pública, fazendo necessário a criação de medidas preventivas, buscando meios alternativos para tratamentos e conscientização da classe da saúde. Sendo assim, esse estudo foi realizado com o objetivo de relatar um caso de cepas de *Escherichia coli* resistentes à antibióticos, em frangos caipiras melhorados.

**Palavras-chave:** Resistência bacteriana, *Escherichia coli*, Saúde pública

### ANTIBIOTIC RESISTANCE DEVELOPED BY *ESCHERICHIA coli* STRAINS IN POULTRY REDNECKS

#### ABSTRACT

Animal production uses antibiotics in their routine, however, its incorrect use ends up leading to the development of resistance bacterium to the antimicrobials used. *Escherichia coli* is a bacterium that triggers various infections, causing damage to the creations. As a result, bacterial resistance is seen as a worldwide public health problem, making necessary the creation of preventive measures, seeking alternative means for treatments and awareness of the health class. Thus, this study was carried out with the objective of reporting a case of antibiotic-resistant strains of *Escherichia coli* in improved free-range chickens

**Key-Word:** Bacterial resistance, *Escherichia coli*, Public health

#### INTRODUÇÃO

O uso de antimicrobianos na produção animal, vem ocorrendo há algumas décadas como formas alternativas para melhorar o desempenho dos animais. Formas estas, como promotores de crescimento e método de prevenção de doenças nos plantéis (APTA & NIGERIA, 2012). Com o uso intenso destes medicamentos, vem sendo observado cada vez mais o surgimento de bactérias resistentes, como efeito colateral. Esse uso indiscriminado acaba interferindo no tratamento de doenças vinculadas por bactérias (Bacarro et al., 2002).

A utilização de antibióticos na produção animal acaba comprometendo tanto a microbiota patogênica como a sarprófitas, promovendo seleção de bactérias, comprometendo os consumidores desses produtos de origem animal pelas mutações ocasionadas (Franco et al., 2006). Vários pesquisadores relatam a resistência de cepas de *E.coli* isoladas de carne suína e outros alimentos a vários antimicrobianos testados como Schroeder et al., (2002) e Boerlin et al., (2005). Observou-se também a transferência de cepas de *E.coli* resistente a antimicrobianos entre frangos e seres humanos (Van Den Boogard et al., 2000)

A *Escherichia coli* é responsável por desencadear quadros de infecções alimentares e comprometer também a criação de animais (Guastalli et al., 2010). No setor avícola, a *E.coli* é responsável por desencadear vários prejuízos econômicos (Oliveira, 2011), como por exemplo, o desenvolvimento de colibacilose nas aves, além de poder ser transmitidos para os pintainhos de 1 dia através dos poros dos ovos, comprometendo assim o desempenho desses animais na granja (Machado et al., 2013).

52 Com isso, a resistência bacteriana é vista como um problema mundial de saúde pública,  
53 preocupando vários órgãos governamentais, como OMS (Organização Mundial da Saúde), ANVISA  
54 (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e  
55 Abastecimento).

56 Frente a esse contexto, as restrições aumentaram, principalmente em âmbito internacional, como  
57 forma preventiva, a fim de evitar futuramente, dificuldades na terapêutica tanto de animais quanto de  
58 humanos. Com isso, o MAPA em parceria à OIE criou uma lista de antibióticos restritos para uso em  
59 produção animal, para se evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana a estes antimicrobianos.  
60 Pensando em Saúde Única, foi criada também a Instrução Normativa MAPA nº 41/2017, com o intuito  
61 de traçar planos para fiscalização do uso dos antimicrobianos junto a conscientização da população e  
62 profissionais da saúde para o uso indiscriminado, evitando a prescrição destes medicamentos sem  
63 necessidade, frisando adquirir os medicamentos de fontes seguras e respeitando sempre os períodos de  
64 carência para colocar o produto no mercado (MAPA 2017)

65 Além das medidas citadas, deve ser feito também o uso consciente, com prescrição do médico  
66 veterinário, sempre que possível realizar cultura e antibiograma para uso de antibióticos em animais  
67 doentes, sempre priorizando os fármacos categorizados como ‘menos importantes’ para a saúde humana  
68 pela OMS e buscar formas alternativas para substituição de antibióticos como promotores de  
69 crescimento nas produções, como já é feito na EU (União Européia) desde 2006 (Burkgren, 2007).

70 Sendo assim, esse estudo foi realizado com o objetivo de relatar um caso de cepas de  
71 *Escherichia coli* resistentes à antibióticos, em frangos caipiras melhorados.

## 72 73 **RELATO DE CASO**

74 Foram recebidas pelo Laboratório de Bacteriologia da Escola de Veterinária e  
75 Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, dois frangos caipiras melhorados. Segundo informações  
76 fornecidas pelo proprietário, as aves apresentavam-se fracas, com aumento de volume na face e por fim,  
77 tumores nos olhos. A morte ocorreu em poucos dias após a apresentação dos sinais clínicos e a doença  
78 vem ocorrendo há mais de um ano na propriedade.

79 Adicionalmente, o proprietário relata que não realiza desverminação e o quadro de  
80 vacinação está incompleta. O manejo alimentar é a base de ração e outras espécies de aves são criadas  
81 no mesmo local. Não há protocolo de limpeza e desinfecção das instalações.

82 Ainda de acordo com o proprietário, vários tratamentos com antimicrobianos foram  
83 realizados, sem prescrições de um médico veterinário.

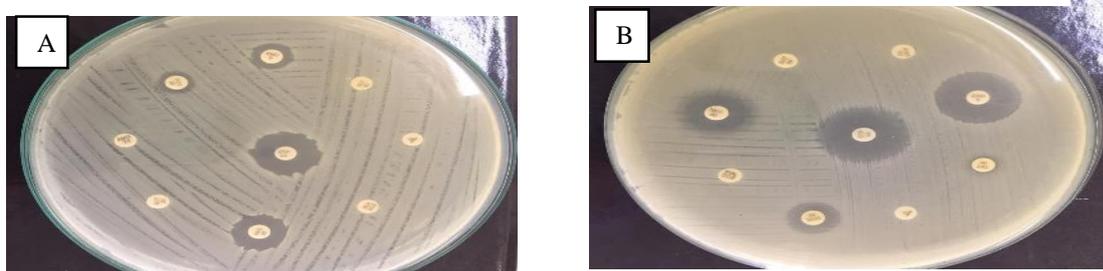
84 A eutanásia foi realizada seguindo a Resolução Normativa Nº 13, 20 de setembro de  
85 2013, para posterior exame necroscópico. Ao exame externo dos animais, observou-se caquexia  
86 acentuada, odor fétido, conjuntivite caseosa. Ao exame das cavidades, os animais apresentaram um  
87 quadro de pericardite, aerossaculite caseosa crônica e verminose intensa: *Heterakis galinarum* e  
88 *Ascaridia gali*.

89 Foram coletados swabs dos sacos aéreos e fragmentos do ceco foram colocados em  
90 placas de petri esterilizadas. Posteriormente, os swabs foram incubados na estufa em caldo BHI para  
91 enriquecimento bacteriano, por 18-24h na temperatura de 37°C, assim como o conteúdo do ceco. No dia  
92 seguinte o material incubado foi passado nas placas MacConkey e Ágar Sangue e incubadas por 18-24  
93 hrs à uma temperatura de 37°. No dia seguinte, as colônias isoladas foram submetidas a coloração de  
94 Gram e testes de bioquímica, como uréia, vermelho de metila, ágar SIM (sulfato, indol, motilidade),  
95 fenilalanina e citrato, para isolamento da *Escherichia coli*.

96 Após isolamento da bactéria, foi realizado o antibiograma. Os seguintes antibióticos  
97 foram testados: Amoxicilina, Enrofloxacina, Tetraciclina, Ampicilina, Doxiciclina, Sulfonamida,  
98 Neomicina, Sulfametoxazol + Trimetopim e Ceftiofur. Os antibióticos testados seguem uma lista do  
99 laboratório de acordo com a espécie animal. A leitura dos antibiogramas segue o Manual para  
100 Antibiograma, do Laborclin. Todos antibióticos testados deram resistentes, como demonstrado nas  
101 FIGURAS A e B, onde todos os halos deram menores do que o recomendado para serem considerados  
102 sensíveis, seguindo o manual.

103  
104  
105  
106  
107  
108

109  
110  
111 Figura A e B: Laboratório de Bacteriologia Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG.  
112 Antibiógramas realizados dos sacos aéreos e conteúdo intestinal para cepa de *Escherichia*  
113 *coli*, resistente a todos antibióticos testados, com ausência de halos ou a presença de halos  
114 pequenos, demonstrando a resistência aos antibióticos.



## 123 124 DISCUSSÃO

125 No atual trabalho foram isoladas *E.coli* de origem aviária com elevada resistência aos  
126 antibióticos testados, constatando o observado em outros trabalhos (Yang et al., 2004; Gonçalves et al.,  
127 2012) tendo como principal causa a utilização errônea e descontrolada dos antimicrobianos. Cepas  
128 patogênicas de *Escherichia coli* resistentes a tetraciclina (95%) também foi relatada por (CARDOSO et  
129 al., 2002).

130 Encontrou-se também cepas resistentes ao Sulfametoxazol + Trimetropim, medicamento este,  
131 proibido pela legislação brasileira como promotor de crescimento ou conservantes de alimentos  
132 (MAPA,1998). Esta resistência deve-se ao uso indiscriminado de antibióticos, sem prescrição de um  
133 profissional, comprometendo assim à saúde pública (COSTA, 2017). A alta resistência da *E.coli* para  
134 antimicrobianos utilizados na terapêutica de produção animal é dado como um risco a saúde pública,  
135 uma vez que as cepas patogênicas aos animais pode estabelecer resistência cruzada com as patogênicas  
136 entéricas que acometem humanos (GONÇALVES et al., 2012).

137 Rossa et al., 2013 isolou enterobactérias de frangos caipiras e orgânicos, posteriormente  
138 realizou-se o teste de antibiograma, sendo estas cepas resistentes a tetraciclina (47%), ampicilina (23%),  
139 sulfonamida (7%), doxiciclina (22%) dos frangos orgânicos, como observada também a resistência a  
140 estes fármacos no atual trabalho.

141 A resistência é mais evidente quando a população de bactérias fica exposta por um prolongado  
142 tempo a antibióticos (SAMPALIO et al., 2018) como visto no trabalho atual, onde se teve uma exposição  
143 prolongada durante um ano a vários medicamentos e conseqüentemente houve sua resistência.

144 O uso de maneira racional dos antimicrobianos é indiscutível e deve ser baseado no  
145 conhecimento dos agentes bacterianos por meio de isolamento e realização de antibiograma, seguida de  
146 prescrição adequada dos medicamentos pelo médico veterinário, a par de seus conhecimentos e  
147 atualizações na terapêutica (MATEU; MARTIN, 2001, SINGER et al., 2003)

148 A procura por medicamentos naturais, para substituição dos antimicrobianos, vem aumentando  
149 cada vez mais, pela realidade atual das resistências bacterianas. Com esse intuito, (CAMARGO, 2014)  
150 identificou quatro ativos contra a *Escherichia coli*, oriundo de plantas da Floresta Amazônica e sua  
151 eficácia foi comparada à clorexidina.

## 152 153 CONCLUSÃO

154 A alta resistência a antimicrobianos nas cepas de *Escherichia coli* testadas, demonstra a  
155 necessidade de seu uso correto nas criações de frangos caipiras e conscientização da população quanto  
156 ao uso destes medicamentos.

157

158

159

160

161

162

163

164 **REFERÊNCIA**

165 APTA, D.F.; NIGERIA, I. The Emergence of antibiotics resistance and utilization of probiotics for  
166 poultry production. Science Journal of Microbiology, 2ed., v.2012, p.8-13, 2012

167  
168 BACCARO M.R., Moreno A.M., Corrêa A., Ferreira A.J.P. & Calderaro F.F. 2002. Resistência  
169 antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia . Arq. Inst. Biol.  
170 69:15-18.

171  
172 BOERLI N, P.; WHITE, D.G. Resistência antimicrobiana e sua epidemiologia. In: GIGUÉRE, S.;  
173 PRESCOTT, J.F.; BAGGOT, J.D.; WALKER, R.D.; DOWLING, P.M. Terapia Antimicrobiana em  
174 Medicina Veterinária, 4ª edição, São Paulo: Roca, 2010.

175  
176 BRASIL AVINEWS. Mapa anuncia proibição de antibióticos promotores de crescimento.

177  
178 BURKGREN T. 2007. Prudent use of antimicrobials: an American vision. In: Proceedings of 38th  
179 American Association of Swine Veterinarian (Orlando, U.S.A.). pp.1-7.

180  
181 CARDOSO, A.L.S.P., TESSARI, E.N.C., CASTRO, A.G.M., PULICI, S.C.P., ZANATTA, G.F.  
182 Prevalência de resistência em amostras de *Escherichia coli* de origem aviária. In: CONFERÊNCIA  
183 APINCO 2002 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas, Anais...Campinas :  
184 FACTA, 2002, p.129.

185  
186 COSTA, P.M.; OLIVEIRA, M.; BICA, A.; VAZ PIRES, P.; BERNARDO, F. Antimicrobial resistance  
187 in *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* from poultry feed and feed ingredients. Veterinary  
188 Microbiology . v.120, p.122 -131, 2007.

189  
190 FRANCO R.M., OLIVEIRA, L.A.T. & CARVALHO, J.C.A.P. 2006. Probióticos-Revisão. Hig.  
191 Alimentar 20:22-33.

192  
193 GONÇALVES P.M.R., PEREIRA V.L.A, SILVA R.C.F, OLIVEIRA L.A.T, NASCIMENTO E.R.  
194 Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* positiva para gene *iss* em frangos de  
195 corte na idade de abate. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15;  
196 p. 2012.

197  
198 GUASTALLI EAL, GAMA NMSQ, BUIM MR, OLIVEIRA RA, FERREIRA AJP, LEITE DS. Índice  
199 de patogenicidade, produção de hemolisina e sorogrupo de amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves  
200 de postura comercial. Arq Inst Biol. 2010;77(1):153-7.

201  
202 MACHADO LS, NASCIMENTO ER, PEREIRA VLA, ALMEIDA DO, ABREU DLC, GOUVÊA R.  
203 PCR na detecção de gene *fel a* de *Escherichia coli* em frangos, de corte condenados por aerossaculite  
204 pela inspeção sanitária federal. Arq Inst Biol. 2013;80(2):145-9.

205  
206 OLIVEIRA AL. Análise da presença de genes do sistema de secreção tipo 6 em cepas de *Escherichia*  
207 *coli* patogênicas aviárias (APEC) isoladas de colisepticemia em frangos de corte do Rio Grande do Sul  
208 [Monografia]. Porto Alegre: Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2011

209  
210 ROSSA L.S, STAHLKE E.V.R, DIEZ D.C, WEBER S.H, STERZ S.C, MACEDO R.E.F. Resistência  
211 antimicrobiana e ocorrência de micro-organismos patogênicos e indicadores em frangos orgânicos e  
212 convencionais: estudo comparativo. Revista Biotemas, 26 (3), Curitiba-PR,2013.

213  
214 SAMPAIO, P. D. S; SANCHO, Leyla Gomes; LAGO, R. F. D. Implementação da nova regulamentação  
215 para prescrição e dispensação de antimicrobianos: possibilidades e desafios: subtítulo do  
216 artigo. Cadernos Saúde Coletiva: subtítulo da revista, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 15-22, fev./2018.

217 CAMARGO LRP, SUFFREDINI IB. Anti-*Escherichia coli* activity of Brazilian plant extracts. New  
218 trends in Veterinary research. Arq Bras Med Vet Zootec. 2014;66(2):617-20.

- 219  
220 VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERINGH, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics. Link  
221 between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Amsterdam, v. 14, n. 4, p.  
222 327- 335, 2000.  
223
- 224 YANG, H., CHEN, S., WHITE, D.G. et al. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant  
225 *Escherichia coli* isolates from diseased chickens and swine in China. *Journal of Clinical Microbiology*,  
226 v.42, n.8, p.3483-89, 2004.  
227

## **Anexo 1 – Normas da Revista Veterinary News**

Os trabalhos devem ser apresentados sem identificação de autores, inclusive os anexos, fotos e figuras. O artigo será encaminhado a três (03) revisores da área, no menor tempo possível, sem a identificação dos autores e, será considerado aprovado com 02 pareceres favoráveis.

Os originais serão publicados em inglês ou português. Orientamos aos autores a submissão de artigos na língua inglesa pois isso facilita aumento de métrica e citação do artigo o que é muito bom para o autor. A revista se reserva o direito de efetuar nas originais alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua, respeitando, porém, o estilo dos autores.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis para impressão, no formato PDF, no endereço eletrônico da revista. Após a avaliação e aprovação do artigo, a revista classificará as colaborações de acordo com as seguintes seções:

**1. Artigos científicos originais** - Artigos que apresentem contribuição inteiramente nova ao conhecimento e permitam que outros investigadores, baseados no texto escrito, possam julgar as conclusões, verificar a exatidão das análises e deduções do autor e repetir a investigação se assim o desejarem.

Seções do texto: Título em português, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão ou Resultados e Discussão, Conclusão (opcional), Title, Abstract, Keywords, Referências. Agradecimentos (caso necessário). Os trabalhos não devem exceder a 4000 palavras, incluídos os anexos.

**2. Artigos de Revisão** - As revisões devem abordar temas de interesse, atuais e de relevância técnico-científica. Devem conter: Título, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Desenvolvimento, Considerações finais ou Conclusão (opcional), Title, Abstract, Keywords, Referências. Agradecimentos (caso necessário). Os trabalhos não devem exceder a 8000 palavras, incluídos os anexos e as Referências.

**3. Relato de caso(s)** - Artigos predominantemente clínicos, de alta relevância e atualidade, relatos de achados na área clínica e básica. Devem conter: Título, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Relato do caso (incluindo material e métodos e resultados), Discussão, Conclusão (quando pertinente). Title, Abstract, Keywords, Referências. Agradecimentos (quando houver). Os trabalhos não devem exceder a 2000 palavras, incluídos os anexos.

**4. Comunicação** - Breve relato ou resultados preliminares de dados de pesquisas originais de grande importância para Medicina Veterinária ou Ciência Animal. O artigo deve conter: Título, palavras chaves, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão) e Conclusão (opcional) e agradecimentos (opcional) e Referências. O título, abstract e palavras chave deve também devem estar em português. O paper não deve exceder 900 palavras.

### **Apresentação dos Manuscritos Formato:**

Todas as colaborações devem ser enviadas por meio do Sistema Eletrônico de Editoração de Revista - SEER, endereço: [www.vetnot.famev.ufu.br](http://www.vetnot.famev.ufu.br). O texto deve estar gravado em extensão .doc ou .docx. O tamanho do arquivo deve ser de no máximo 8 MB.

Os metadados deverão ser obrigatoriamente preenchidos com o título do trabalho, nome(s) do(s) autor(es), último grau acadêmico, instituição que trabalha, endereço postal, telefone e e-mail.

Os manuscritos deverão seguir as normas vigentes: NBR 6022/2003 (Artigo em publicação periódica científica impressa), NBR 6023/2002 (Referências - Elaboração), NBR 6024/2003 (Numeração progressiva das seções de um documento escrito), NBR 6028/2003 (Resumo), NBR 10520/2002 (Citações em documentos), NBR 14724/2005 (Trabalhos acadêmicos).

NOTA: Recomenda-se a consulta à obra: SILVA, Ângela M. PINHEIRO, Maria S. F. FRANÇA, Maira N. Guia para normalização de trabalhos técnico-científicos: projetos de pesquisa, monografias, dissertações, teses. 5 ed. rev. atual. Uberlândia: Edufu, 2011.

### **Formatação do texto:**

A redação deve primar por clareza, brevidade, concisão e na forma impessoal. O texto deve ser apresentado em .doc ou .docx, A4, em fonte Times New Roman, tamanho 11, espaço em espaço simples, com parte superior, inferior, a 2 cm e direita e esquerda 2,5 cm. As linhas devem ser numeradas à esquerda. Cada parágrafo deve ser recuado 1,25 centímetros. O texto será escrito cordialmente, com intercalação de tabelas e figuras, já inseridas no texto, em quantidade mínima necessária para a sua compreensão. O tamanho do arquivo deve ser de no máximo 8MB, incluindo tabelas e figuras. Os títulos de cada seção são escritos em negrito, alinhados à esquerda, em letras maiúsculas.

O manuscrito não deverá constar os nomes dos autores, que deverão ser encaminhados em folha separada no item documentos suplementares. Deve conter o nome completo de cada autor seguido por uma numeração sobre escrita que ira identificar a instituição de origem de cada autor. O autor correspondente deve ser identificado com um asterisco ao lado do número que identifica a instituição de origem. Deve constar também o endereço para correspondência, telefone e e-mail do autor principal, como medida de sigilo. Além disso, deve identificar qual a seção o artigo deve ser inserido.

### **Itens do manuscrito:**

**Título do artigo:** O título deve ser breve e suficientemente específico e descritivo, Título em negrito, centralizado, caixa alta, fonte Times New Roman e tamanho 12. Subtítulo em negrito, caixa alta, fonte Times New Roman, tamanho 11. Após título espaço 1,5. O título também deve estar em inglês.

**Resumo:** Espaçamento simples, Fonte Times New Roman, tamanho 11. O resumo deve ser informativo e conter de 100 a 300 palavras em parágrafo único, conter apresentação concisa dos pontos relevantes do manuscrito. Deve haver um resumo também na língua portuguesa.

**Palavras-chave:** As palavras-chave não devem repetir palavras do título, devendo-se incluir o nome científico das espécies estudadas. As palavras devem ser separadas entre si por vírgulas. Os autores devem apresentar de 3 a 6 termos, considerando que um termo pode ser composto de duas ou mais palavras que corresponderem a palavras ou expressões que identifiquem o conteúdo do artigo.

O manuscrito deve conter ainda Introdução, Material e Método, Resultados, Discussão e conclusão. Caso haja Equações e fórmulas devem ser apresentadas via recurso do "Microsoft equation" Nos trabalhos que envolvam animais, humanos e organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do protocolo de aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais e/ou de Biossegurança, quando for o caso.

Figura e Tabelas: Os títulos de tabelas e figuras devem ser apresentados em espaçamento simples e tamanho 11. Tabelas e figuras devem ser classificadas com algarismo arábico. Títulos de figuras devem vir abaixo e o título das tabelas deve estar acima das mesmas. As tabelas devem ser digitadas segundo menu do Editor de texto "Inserir Tabela", em células distintas (não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela.

### **Normas para elaboração de figuras:**

1. As figuras podem ser feitas em softwares de preferência dos autores (Excel, Sigma Plot, e outros), devendo ser inseridas em formato TIFF ou JPG com resolução mínima de 300 dpi.

2. Os títulos e a escala dos eixos x e y deverão ser em Times New Roman tamanho 9. As linhas dos eixos e demais linhas (e.g., curvas de regressão) deverão ter espessura de 0,3 mm. Todas as informações contidas no interior da figura (e.g., equações, legendas) deverão ser em Times New Roman tamanho 10 ou no mínimo 8. São dispensáveis as bordas, direita e superior, em gráficos.

3. As figuras podem ser constituídas por múltiplos gráficos ou imagens, tanto na horizontal como na vertical, respeitando a largura máxima de 16,0 cm e 8,0 cm, respectivamente. Quando se tratar de figuras com vários gráficos, os mesmos deverão ser identificados por letras (A, B, C, D) em maiúsculo entre parênteses, fonte Times New Roman 11.

4. Unidades de Medidas: As medidas devem ser padronizadas para unidades do sistema métrico decimal de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (SI).

**Notas:** Notas contidas no artigo devem ser indicadas com um asterisco imediatamente depois da frase a que diz respeito. As notas deverão vir no rodapé da página correspondente. Excepcionalmente poderão ser adotados números para as notas junto com asteriscos em uma mesma página, e nesse caso as notas com asteriscos antecedem as notas com número, não importando a ordem dessas notas no texto.

**Apêndices:** Apêndices podem ser empregados no caso de listagens extensivas, estatísticas e outros elementos de suporte.

### **Referências:**

Usar as normas NBR 6023/2002. A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto são da responsabilidade do autor. Informação oriunda de comunicação pessoal, trabalhos em andamento e os não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em nota de rodapé da página onde forem citados.

As referências devem ser incluídas no final do artigo em ordem alfabética. Todos os autores devem ser mencionados na lista de referências.

Citação dos Autores no Texto: As citações dos autores no texto deverão ser apresentadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT da seguinte forma: Até três autores citar todos. Exemplo:

Conforme Nigro (1972) a integração do tecido [...]

Fontes e Moreira (1988) observaram que [...]

Segundo Souza, Silva e Diniz (2002) [...]

Foi indicado por Campbell et al. (1973) o uso reparo de tendões flexores de eqüinos (MOREIRA, 1970; FERNANDES et al., 1972; SCHIVER, 1980).

Conforme o National Research Council (1994)

### Modelos de Referências:

Para todas as referências devem ser incluídos o número do DOI. Para isso basta que o autor siga os seguintes passos: Entre no link do site do Crossref (<https://apps.crossref.org/SimpleTextQuery>) e em "Enter text in the box below:" cole todas as referências separadas umas das outras com espaço, clique em "submit" e o crossref devolve as referências com o link do DOI na frente. Algumas referências estarão sem link e as causas podem ser: O artigo não tem DOI ou a referência está errada. Caso a referência venha sem o link favor entrar no site da publicação do artigo para checar se a referência está errada.

TODOS os autores devem ser citados na referência.

a) Livro no todo Autor entidade: COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2. ed. Belo Horizonte, 1998. 49p.

Autor pessoal: CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A.; McDOWELL, L. R. Nutrição de bovinos a pasto. Belo Horizonte: Papelform, 2003. 428p.

b) Capítulo de livro com autoria própria GINGERICH, D. A. Pathophysiologic basis for fluid therapy. In: AMSTUTZ, H. E. Bovine medicine & surgery. Santa Barbara: American Veterinary Publication, 1980. cap. 16, p. 805-816.

c) Capítulo de livro sem autoria própria COSBY, P. C. Ética na pesquisa. In: COSBY, P. C. Métodos de pesquisa em ciências do comportamento. Tradução de Paula Inez Cunha; Emma Otta. São Paulo: Atlas, 2003. p. 51-79.

d) Artigo de periódico (apresentar os títulos de periódicos por extenso) PAHLAVANI, M. A.; VARGAS, D. A. Action-induced apoptosis in T cell from young and old fisher 344 rats. International Archives of Allergy and Immunology, Basel, v. 22, n. 3, p. 182-189, July 2000.

e) Trabalhos apresentados em eventos (congressos, reuniões, etc.) BRANDÃO, A. C. F.; BARBOSA, G. V. S.; DE MIRANDA, E. C. Programas de luz no desempenho de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: SBZ, 2004. 1 CD-ROM.

f) Tese, dissertação e monografia RODRIGUES, M. A. M. Resposta imune e modificações morfológicas de vilosidades intestinais de leitões suplementados com probióticos. 2002. 96 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2002.

g) Livro on-line PARRISH, T. J. Teaching of the new testament on slavey. New York: J. H. Ladd, 1856. Disponível em: <<http://www.cs.deu/book.html>>. Acesso em: 17 set. 1995.

h) Artigo de periódico on-line OLIVEIRA, M. M. N. F. de; TORRES, C. A. A.; VALADARES FILHO, S. C.; SANTOS, A. D. F.; PROPERI, C. P. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenhos produtivo e reprodutivo. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 33, n. 2, nov./dez. 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_issuetoc&pid=1516-359820040009&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=1516-359820040009&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 06 maio 2005.

i) Documento disponível exclusivamente em meio eletrônico (internet) SANTOS, M. V.; TOMAZI, T. Produção de leite como fator de risco para ocorrência de mastite. In: MILKPOINT. 2012. Disponível em:...