



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE  
FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO  
E RELATÓRIO DE ESTÁGIO OBRIGATÓRIO**

**GIOVANNA ESPÍNDOLA LOPES**

**CAMPO GRANDE – MS  
2025**

**GIOVANNA ESPÍNDOLA LOPES**

**RELATÓRIO FINAL DE ESTÁGIO OBRIGATÓRIO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE  
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**GIOVANNA ESPÍNDOLA LOPES**

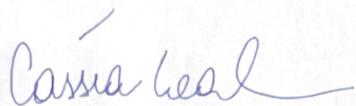
**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Cássia Rejane Brito Leal**

**Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Medicina Veterinária  
apresentado à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito  
à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.**

**Campo Grande – MS  
2025**

GIOVANNA ESPÍNDOLA LOPES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em 14 de outubro de  
2025, e aprovado pela Banca Examinadora:



Prof.<sup>a</sup> Dra. Cassia Rejane Brito Leal  
Presidente

  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Veronica Jorge Babo Terra

Documentos assinados digitalmente  
 LEILA SABRINA ULLMANN  
Data: 23/10/2025 17:35:00-0300  
Certificado emitido por: Centro de Governo do Estado de São Paulo

Prof.<sup>a</sup> Dra. Leila Sabrina Ullmann

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus, pela força e amparo necessários para enfrentar cada desafio e por ter iluminado meu caminho ao longo dessa jornada.

Apesar dos percalços, sempre pude contar com o amor e a dedicação dos meus pais, Catarina Valéria Damasceno Espíndola Lopes e Fernando Coutinho Lopes Pereira, que estiveram presentes em todos os momentos, apoiando-me e servindo de exemplo de caráter, esforço e perseverança.

À minha irmã, Isabella Espíndola Lopes, agradeço pelo companheirismo, pelo carinho e por estar sempre ao meu lado. Somos unidas por um laço eterno, e ter você como irmã é um dos maiores presentes que a vida me concedeu.

Meu profundo agradecimento ao meu namorado, João Victor Janczeski Nahaban Brandão, por sua presença constante, apoio incondicional e incentivo em todos os momentos. Obrigada por acreditar em mim, por me fortalecer nos dias difíceis e por ser exemplo de profissional e ser humano. Sua dedicação à Medicina Veterinária e sua ética inspiram-me a ser uma profissional melhor a cada dia.

Agradeço com enorme respeito e admiração à minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Cássia Rejane Brito Leal, pela orientação cuidadosa, paciência e por ter contribuído para o meu amadurecimento acadêmico e científico. Foi uma honra poder contar com sua orientação e aprendizado.

Estendo meus agradecimentos à Prof.<sup>a</sup> Dra. Leila Sabrina Ullmann e à Prof.<sup>a</sup> Dra. Verônica Jorge Babo Terra, pelas valiosas lições compartilhadas ao longo da graduação. Levarei comigo o exemplo de excelência, ética e paixão pelo ensino que ambas transmitiram nas áreas de laboratório veterinário e clínica médica.

Por fim, agradeço a todo o corpo docente da Faculdade de Medicina Veterinária e aos médicos-veterinários que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação, oferecendo conhecimento, experiências e inspiração para o constante aprimoramento pessoal e profissional.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	03
1.1 Diagno Vet – Laboratório Veterinário.....	03
1.2 Laboratório de Bacteriologia Veterinária (FAMEZ/UFMS).....	04
1.3 Objetivo.....	05
<b>2. RELATÓRIO DE ESTÁGIO.....</b>	05
2.1.Diagno Vet Laboratório Veterinário.....	05
2.1.1 Local de estágio.....	05
2.1.2 Estrutura.....	07
2.1.3 Atividades.....	11
2.1.4 Casuística.....	18
2.1.5 Considerações finais.....	18
2.2 Laboratório de Bacteriologia Veterinária (FAMEZ/UFMS).....	20
2.2.1Local de estágio.....	20
2.2.2 Estrutura.....	21
2.2.3 Atividades.....	23
2.2.4 Casuística.....	29
2.2.5 Considerações finais.....	31
<b>3. PROJETO DE PESQUISA – AÇÃO ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE AROEIRA (<i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i>).....</b>	31
3.1 Introdução.....	31
3.2 Revisão de literatura.....	33
3.3 Desenvolvimento.....	42
3.3.1 Material e métodos.....	42
3.3.2 Resultados e discussão.....	46
3.4 Conclusão.....	48
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	50

## 1. INTRODUÇÃO

O estágio obrigatório configura-se como última etapa, indispensável para consolidar a formação do estudante de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sendo requisito obrigatório para a obtenção do título de Médico Veterinário. Inserido no décimo semestre do curso, esse componente curricular visa contemplar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo da graduação por meio da inserção prática na rotina profissional da área de interesse do discente. Essa experiência final proporciona ao acadêmico não apenas o aperfeiçoamento técnico-científico, mas também o desenvolvimento de habilidades interpessoais e comportamentais essenciais à prática veterinária.

É importante destacar que, anteriormente ao estágio obrigatório, o estudante tem a oportunidade de vivenciar um estágio intensivo, o qual favorece a identificação com a área desejada, orientando a escolha para a etapa seguinte. Dessa forma, o estágio obrigatório representa não apenas um momento de transição entre a formação acadêmica e o exercício profissional, mas também uma oportunidade valiosa de integração entre teoria e prática, contempla integralidade do curso, ao acompanhar o desenvolvimento em diferentes competências.

### 1.1 Diagno Vet – Laboratório Veterinário

A primeira etapa do estágio supervisionado, sob orientação da Professora Dr<sup>a</sup>. Cassia Rejane Brito Leal, foi realizada, com supervisão da Médica Veterinária Kárin Virginia Kuibida, no laboratório Veterinário Diagno Vet, em Campo Grande – MS, no período de 16 de junho a 15 de agosto de 2025, durante 8 horas diárias, 40 horas semanais, totalizando 360 horas, direcionado à área de patologia clínica veterinária, com foco em obtenção da qualidade das etapas pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas.

A seleção do local para a realização do estágio foi fundamentada na excelência dos serviços prestados e na infraestrutura do laboratório. Ressalta-se, ainda, que a instituição é reconhecida como referência na área e figura entre as pioneiras no Estado de Mato Grosso do Sul, com duas décadas de atuação.

A escolha da área foi orientada pela afinidade e interesse no campo da Patologia Clínica. O laboratório disponibiliza metodologias diagnósticas relevantes, como os testes de RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta), ELISA (Ensaio de

Imunoabsorção Enzimática), IDGA (Imunodifusão em Gel de Ágar), coproparasitológico e pesquisas diretas de parasitas, fungos e hematozoários. A aplicação dessas técnicas possibilitou uma compreensão aprofundada da importância dos exames complementares no processo diagnóstico, permitindo integrar de maneira contínua as três fases do processo laboratorial: a fase pré-analítica, que envolve o preparo do paciente, requisição de exames, coleta, acondicionamento, transporte e chegada das amostras ao laboratório; a fase analítica, referente à análise propriamente dita, equipamentos e fluxo de dados; e a fase pós-analítica, que comprehende a emissão e interpretação dos laudos e diagnóstico. Essas etapas são fundamentais para garantir a confiabilidade e a qualidade dos resultados obtidos, além de permitirem o contato com diferentes técnicas, condutas e suas respectivas limitações.

## 1.2 Laboratório de Bacteriologia

A segunda etapa do estágio supervisionado, sob orientação e supervisão da Professora Drª. Cássia Rejane Brito Leal, foi realizada no Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LABAC) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), em Campo Grande – MS, no período de 08 de setembro a 03 de outubro de 2025, durante 6 horas diárias, 30 horas semanais, com carga horária total de 120 horas.

A experiência prática foi direcionada à área de bacteriologia veterinária, permitindo a vivência em atividades essenciais da rotina laboratorial, como o recebimento de amostras, o acompanhamento dos processos de esterilização, a organização de materiais e a preparação de meios de cultura. Também foram executadas técnicas de semeadura, provas bioquímicas e testes complementares para identificação bacteriana, além da aplicação de métodos de coloração e de exames diretos voltados à detecção de dermatófitos e dermatofílozes.

A escolha do laboratório de Bacteriologia Veterinária (LABAC-FAMEZ/UFMS) para a realização do estágio supervisionado foi fundamentada na excelência da infraestrutura disponibilizada e na competência técnica de sua equipe, composta por profissionais altamente qualificados e reconhecidos na área. O laboratório é considerado uma referência no Estado de

Mato Grosso do Sul, atuando como unidade de apoio essencial às atividades de ensino, pesquisa e extensão.

### **1.3 Objetivo**

A finalidade deste relatório é descrever a estrutura física dos ambientes de execução do estágio curricular, detalhar as atividades desenvolvidas, casuísticas e rotina do local escolhido e apresentar um projeto de pesquisa: “A ação antimicrobiana do extrato de aroeira”.

## **2. RELATÓRIO DE ESTÁGIO**

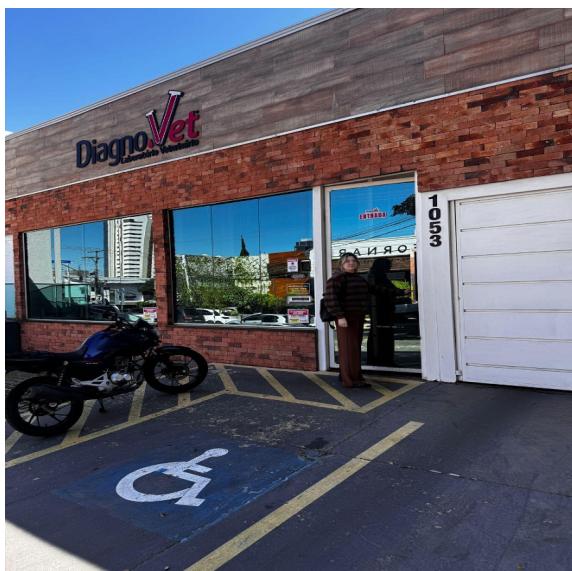
### **2.1. Diagno Vet Laboratório Veterinário**

#### **2.1.2 Local de estágio**

O primeiro período de estágio obrigatório realizado foi na Diagno Vet – laboratório veterinário, (Figura 1 – fachada), localizado na rua Manoel Inácio de Souza, 1053 – Santa Fé, Campo Grande – MS, CEP 79021-190.

O estágio foi desenvolvido no período de 16 de junho de 2025 a 15 de agosto de 2025, com carga horária de 8 horas diárias, das 9:00h até as 18:00h, com uma hora de almoço, de segunda-feira a sexta-feira, totalizando 307 horas.

O horário de funcionamento do laboratório é de segunda a sexta-feira, das 08h:00 às 18h:00, e aos sábados das 08h:00 até as 12h:00.



**Figura 1.** Fachada da Diagno Vet Laboratório Veterinário. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

O Laboratório Veterinário atua desde 2006, oferecendo serviços especializados em diversas áreas da Medicina Veterinária, incluindo Citopatologia, Hematologia, Histopatologia, Imunologia, Parasitologia, Urinálise, Endocrinologia, Bioquímica, além de exames específicos para Mormo e Anemia Infecciosa Equina (AIE) (Figuras 2 e 3).

**DiagnoVet**  
Laboratório Veterinário

**USO DO LABORATÓRIO**

**REQUISIÇÃO DE EXAMES**

**PACIENTE**

**EXAMES SOLICITADOS**

**OUTROS EXAMES:**

**PERFIS**

**HEMATOLOGIA**

**BIOQUÍMICA**

**IMUNOLOGIA**

**ANEXOS**

**NOTAS**

**DECLARAÇÃO**

**CITOLOGIA**

**HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA**

**ANATOMIA PATOLÓGICA**

**TOPOGRAFIA E DESCRIÇÃO DAS LESÕES**

**LEGENDA**

**HORMÔNIOS**

**MICROBIOLOGIA**

**PARASITOLOGIA**

**BIOLOGIA MOLÉCULAR (PCR)**

**PARA USO DO LABORATÓRIO**

**Figura 2.** Tabela de exames Diagno Vet, frente.  
Fonte: Arquivo pessoal (2025).

**Figura 3.** Tabela de exames Diagno Vet, verso. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

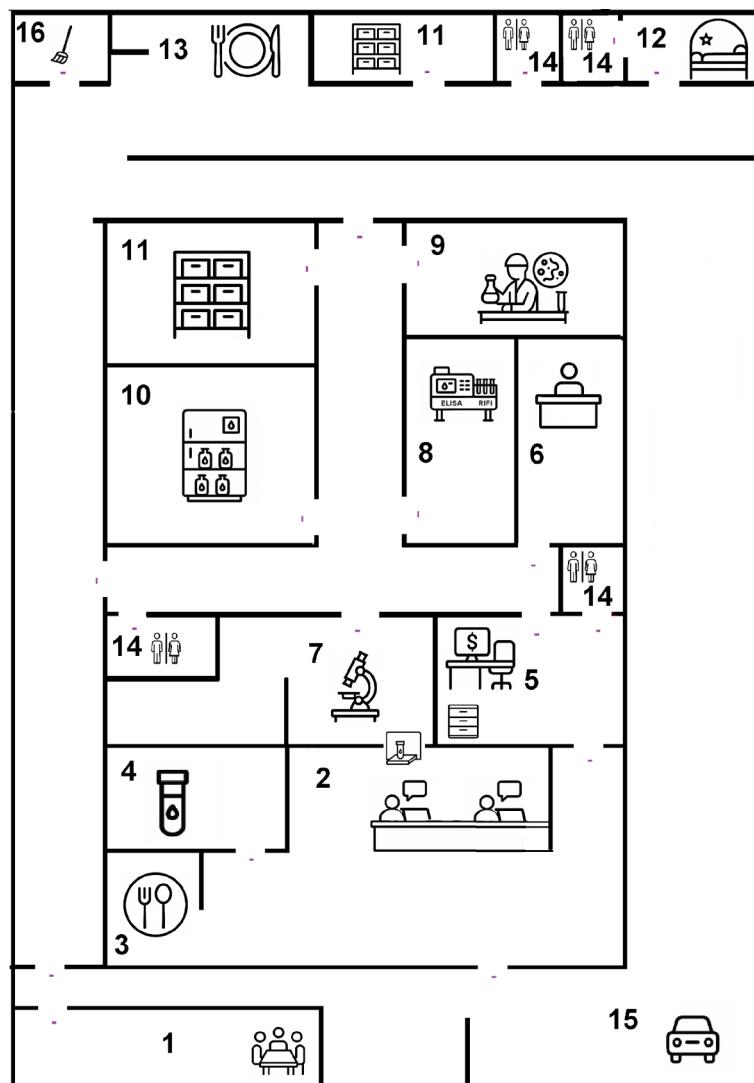
O laboratório se destaca pela garantia de compromisso com a qualidade e a confiabilidade dos resultados entregues, através da competência de suas operações, assegurando a imparcialidade e melhoria contínua do sistema de gestão da qualidade, com rastreabilidade, imparcialidade, ética, confidencialidade, monitoramento e controle contínuo das atividades realizadas, em conformidade com as normas de Boas Práticas para serviços de saúde que realizam atividades laboratoriais (BRASIL, 2023) e com a legislação vigente sobre responsabilidade técnica em medicina veterinária (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2020).

Conta também com laboratórios parceiros, realizando encaminhamento de amostras para exames complementares, incluem-se análises hormonais, culturas

(como hemocultura e cultura urinária), obedecendo aos critérios estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para monitoramento de doenças de notificação obrigatória (BRASIL, 2018).

### 2.1.3 Estrutura

A estrutura física do laboratório é bem organizada e funcional, composta por diversas instalações que atendem de forma adequada às necessidades administrativas e operacionais (*Figura 4*).



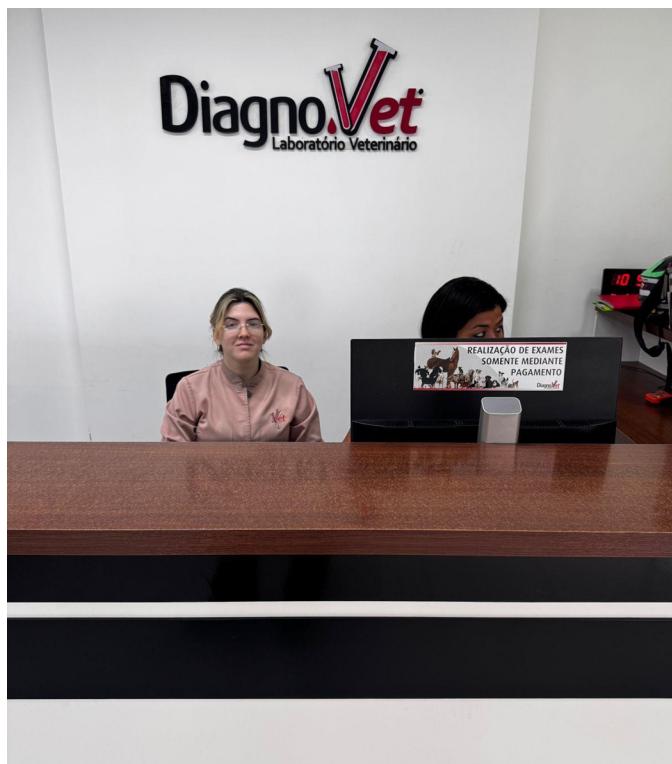
**Figura 4** – Planta baixa com identificação dos setores do laboratório (imagem meramente ilustrativa).

Legenda: 1 – Sala de reuniões; 2 – recepção; 3 – Copia; 4 – Sala de coleta; 5 – Sala do setor financeiro; 6 Sala da responsável técnica; 7 – Sala de análises clínicas; 8 – Sala de imunologia; 9 – Sala de parasitologia; 10 – Sala de armazenamento de amostras biológicas; 11 – Sala de arquivamento e organização dos documentos; 12 – Sala de descanso; 13 – Refeitório; 14 – Banheiros; 15 – Garagem; 16 DML. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Na área de acesso principal, encontram-se a sala de reuniões, a recepção, a garagem, o depósito de material de limpeza (DML), a copa, a sala de coleta, a sala da responsável técnica, a sala do setor financeiro, a sala de análises clínicas, a sala de imunologia, a sala de parasitologia, a sala de armazenamento de amostras biológicas e duas salas destinadas ao arquivamento e à organização dos documentos. Há, ainda, uma sala de descanso, um refeitório, dois banheiros de uso comum e, na parte posterior, dois banheiros localizados na área de descanso. A disposição desses espaços permite o adequado fluxo de trabalho e favorece as condições de biossegurança (*Figura 4*).

- Recepção

A Diagno Vet possui ambiente de recepção e espera, conferência e classificação de amostras biológicas antes de adentrar à área técnica. Este setor é responsável pelo controle do caixa, recebimento das amostras, nas condições adequadas, conferência das requisições e verificação dos pedidos, incluindo o tipo de atendimento (ex.: urgência) (*Figura 5*).



**Figura 5.** Recepção. Diagno Vet Laboratório Veterinário. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

- Sala de coleta

A sala de coleta dispõe de uma mesa impermeável em inox, pia de higienização, armários próprios para equipamentos e insumos, os materiais necessários para a coleta, como agulhas, seringas, tubos, luvas, solução antisséptica, recipiente para descarte de perfurocortantes (Descarpack®).

- Sala de análises clínicas

A sala de análises clínicas é equipada com uma pia, cinco bancadas, quatro computadores, dentre os instrumentos disponíveis, destacam-se: Microscópios, micropipetas de diferentes volumes, suportes para tubos coletores, armários para armazenamento de vidrarias e reagentes, climatização, unidade de refrigeração exclusiva, para reagentes e amostras de matérias biológicas contendo termômetro, de máxima e mínima com registro de temperatura, centrífugas, analisadores bioquímicos, analisador de eletrólitos, balança digital e manual, banho-maria digital, banho seco, termo bloco, homogeneizador de soluções, refratômetros, analisadores hematológicos, além de câmaras de contagem, testes qualitativo para dermatófitos, testes rápidos para Cinomose anticorpo e antígeno, Ehrlichiose/Anaplasma, Leishmaniose da marca Alere®.

Conta também com materiais para limpeza e descarte, locais para resíduos comuns e para descarte de material contaminado, Descarpack®, local para coloração de lâminas, ambiente para pipetagem e acondicionamento de material, preparação e registro da soroteca, bem como processos e procedimentos de referência.

- Sala de Imunologia

A sala de imunologia é destinada à realização de testes como RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta), ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e IDGA (Imunodifusão em gel de ágar).

- Sala de armazenamento de amostras biológicas

Neste setor, encontram-se unidades de refrigeração exclusiva para reagentes utilizados nos diversos setores, contendo termômetro de máxima e mínimo, com registro diário de temperatura, soroteca, unidade de refrigeração exclusiva para amostras de material biológico, utilizados nos setores com

termômetro de máxima e mínima, com registro diário de temperatura, bancadas de fácil higienização, armários próprios para insumos laboratoriais e reposição na rotina do laboratório. As amostras armazenadas na soroteca permanecem por um período de 30 dias e as armazenadas com lacre por 60 dias, permitindo a realização de exames adicionais e para contraprova, respectivamente.

- Sala de Parasitologia

A sala de parasitologia é equipada com instrumentos e reagentes essenciais à realização de exames coproparasitológicos e pesquisa direta. Dentre os reagentes disponíveis, destacam-se: Solução de Lugol, Solução salina a 0,85%, Solução de Faust (sulfato de zinco), Solução de Sheather (sacarose densa), Formol a 10% e álcool 70%, utilizados para conservação e desinfecção das amostras.

Além disso, o setor conta com: Paratest®, espátulas, bastões de vidro, peneiras com gaze para filtragem de fezes, frascos de coleta identificados, lâminas e lamínulas, kits comerciais para detecção de parasitas, armário, pia e bancada exclusiva para realização dos exames parasitológicos.

- Sala de Documentos

No âmbito da rotina laboratorial, todos os laudos e documentos vinculados aos exames são devidamente organizados e preservados, em local próprio de acordo com as normas e procedimentos da Diagno Vet, conforme exigências legais. A requisição de exames e os resultados são armazenados em arquivo físico e digital por um período mínimo de cinco anos.

- Refeitório e Área de Descanso

O refeitório conta com geladeira, fogão, micro-ondas, pia, mesas e cadeiras. Ao lado, encontra-se a área de descanso, equipada com dois sofás, televisão e dois banheiros, proporcionando conforto e bem-estar à equipe.

#### **2.1.4 Atividades**

##### **A) Fase pré-analítica**

A fase pré-analítica inicia-se com a solicitação da análise, passando pela obtenção da amostra e finalizando-se no momento em que se inicia a análise propriamente dita (KUIBIDA; BORGES, 2021).

O estágio teve duração total de oito semanas. Na primeira semana, de 16 a 23 de junho, as atividades ocorreram na recepção do laboratório, acompanhando a entrada dos requerimentos, recebimento e conferência das amostras e requisições.



**Figura 6.** Primeira Verificação. Diagno Vet Laboratório Veterinário. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

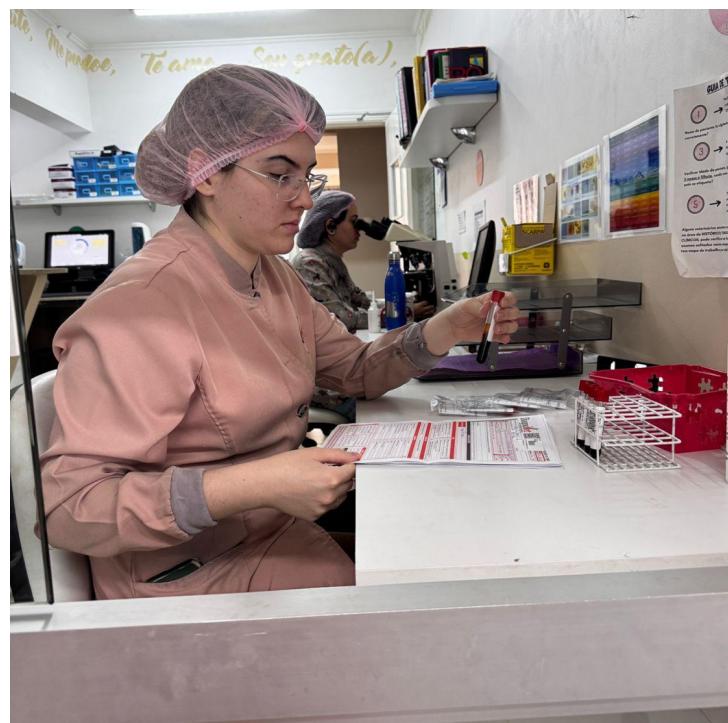
Nesse momento, ocorre a primeira verificação (*Figura 6*), se os pedidos estavam de acordo com a requisição do médico veterinário, se a temperatura das amostras se encontrava adequada para o exame solicitado — utilizando termômetro digital infravermelho, além da digitalização e impressão dos mapas de trabalho, etiquetagem das amostras com código de barras, nome e numeração.

Posteriormente, iniciei as atividades na sala de análises clínicas, utilizando corretamente os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), conforme descrito por Assis e Braga (2021).

O laboratório fornece orientação adequada de coleta do paciente para o tutor e médico veterinário. O laboratório realiza coleta no estabelecimento prezando pelo cuidado com o paciente e pelo correto manuseio da amostra. Possui padronização da coleta para garantir a qualidade dos resultados dos exames.

A segunda verificação (*Figura 7*) para critérios de aceitabilidade e rejeição de amostras era realizada já na área técnica, sendo realizadas as seguintes avaliações:

1. Volume adequado para cada frasco com e sem anticoagulante (EDTA);
2. Uso do frasco correto para o exame específico;
3. Integridade da amostra (ausência de coágulos, hemólise, lipemia, congelamento indevido);
4. Necessidade ou não de proteção da luz;
5. Outros elementos essenciais para garantir a precisão e a confiabilidade dos resultados obtidos, como descrito por BUSH (2004).



**Figura 7** – Segunda verificação. Diago Vet Laboratório Veterinário. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Quando uma não conformidade era identificada, solicitava-se nova coleta de amostra no próprio sistema; a amostra inadequada era descartada em lixo infectante branco (Grupo A).

Após a triagem, era gerado o mapa de trabalho para os exames solicitados e distribuídos nos setores.

## B) Fase analítica

A fase analítica exige conhecimento aprofundado da metodologia utilizada e controle rigoroso do processo (KUIBIDA; BORGES, 2021).

- Hemograma

É composto por três etapas principais:

1. Eritrograma, que inclui a determinação do hematócrito, dosagem de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e avaliação morfológica;
2. Leucograma, englobando a contagem total e diferencial de leucócitos, bem como a análise morfológica;
3. Avaliação plaquetária, que abrange a contagem e observação da morfologia das plaquetas, auxiliando na interpretação do sistema hemostático.

Ordem dos processos:

- Homogenização da amostra de sangue;
- Volume globular técnica do microhematocrito;
- Determinação da concentração plasmática de proteína;
- Preparação dos esfregaços sanguíneos e coloração;
- Analise automatizada de hematologia veterinária;
- Microscopia;
- Liberação dos laudos.

Inicialmente realiza-se o esfregaço sanguíneo, utilizando sangue homogeneizado coletado por capilaridade preenchendo o capilar, uma gota de sangue que é estendida sobre lâmina de vidro. A leitura do hematócrito era feita com o capilar após fechar com massa selante e centrifugar o tubo a 3600 RPM por 5 minutos e medir com o Cartão de Leitura de Hematócrito. O plasma obtido por esse procedimento pode ser utilizado também na realização de outros testes laboratoriais, como a dosagem de proteínas plasmáticas totais e de fibrinogênio

aplicando-se a técnica de precipitação térmica (banho maria a 56 °C por 3 minutos), seguida de leitura em refratômetro.

O sangue é transferido e processado para o analisador hematológico, onde passa por etapas automáticas que incluem a diluição e a homogeneização da amostra. Em seguida, o equipamento aplica princípios físicos e ópticos, que mensuram parâmetros hematológicos específicos, sendo efetuada a contagem de leucócitos, plaquetas, hemácias e índices hematimétricos.

Quando os resultados do analisador apresentam divergências do que é visto no esfregaço sanguíneo, realiza-se manualmente a contagem de leucócitos. O resultado é anexado ao mapa de trabalho.

As lâminas eram coradas pelo kit de Panótico Rápido (referências), secas e encaminhadas para leitura no microscópio, fazendo uso também do óleo de imersão e contador manual hematológico. A contagem é sempre comparada com o que é visto ao microscópio e o resultado obtido pela máquina, confirmada pelo patologista clínico.

- Concentração de Reticulócitos

A quantificação de reticulócitos é um dos parâmetros mais confiáveis para avaliar a atividade eritropoiética da medula óssea, devendo, contudo, ser interpretada considerando as particularidades de cada espécie, sendo utilizada de modo confirmatório.

As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo anticoagulante EDTA e homogeneizadas adequadamente. Em seguida, 0,5 mL de sangue fresco foi transferido para um tubo de ensaio, adicionando-se 0,5 mL do corante (Azul de Cresil Brilhante ou Novo Azul de Metileno), obtendo-se uma proporção 1:1 entre sangue e corante. Após homogeneização, a mistura foi posta em banho-maria a 37 °C por 15 minutos. Decorrido o tempo, o tubo foi agitado suavemente e confeccionou-se o esfregaço em lâmina. A contagem de reticulócitos foi realizada em, no mínimo, dez campos microscópicos, correspondendo a aproximadamente 1000 eritrócitos observados, sendo o resultado expresso em porcentagem.

- Bioquímica sérica

A análise bioquímica constitui ferramenta essencial para a avaliação do metabolismo e da função de órgãos em diversas espécies animais, fornecendo informações fundamentais para o diagnóstico e monitoramento clínico (THRALL, 2007).

As amostras em tubos sem anticoagulante ou com gel separador permanecem em banho-maria a 37 °C por 10 minutos, enquanto as amostras em frascos com fluoreto são encaminhadas diretamente para centrifugação. O processo de centrifugação é realizado no próprio tubo de coleta, a 2.000 rpm por 5 minutos. Após a separação, o soro é cuidadosamente transferido para microtubos tipo Eppendorf® de 1,5 mL, devidamente identificados com código de barras vinculado à requisição, para leitura e liberação do resultado pelo aparelho.

Antes do processamento, os reagentes do equipamento bioquímico são retirados da refrigeração com uma hora de antecedência, para atingirem temperatura ambiente. O analisador automatizado (Roche® ou Thermo Scientific®) passa sempre por conferência antes e após o uso.

O painel bioquímico processado inclui parâmetros de função hepática (ALT, AST, FA, GGT, bilirrubina total e frações), função renal (ureia, creatinina, SDMA), metabolismo energético e eletrolítico (glicose, cálcio, fósforo, magnésio, sódio, potássio, cloro), perfil lipídico (colesterol total e frações, triglicerídeos, HDL, LDL), marcadores musculares (CK, LDH) e outros exames complementares (ácido úrico, proteínas totais, albumina e globulinas).

As amostras que não são processadas imediatamente são armazenadas sob refrigeração (2–8 °C). Após análise, podem ser mantidas a –20 °C por até 30 dias, garantindo rastreabilidade e integridade antes do descarte.

Todos os resultados passaram por conferência e validação final pela responsável técnica, garantindo rastreabilidade e conformidade com os padrões de qualidade laboratoriais.

- Urinálise

Realizava-se análise física (volume, aspecto, densidade), química (pH, proteína, glicose, corpos cetônicos, bilirrubina, urobilinogênio, hemoglobina, mioglobina, leucócitos) e microscópica do sedimento urinário. A leitura era feita após centrifugação a 1500 rpm por 5 minutos, com preparo de duas lâminas para observação em microscópio.

As amostras de urina são acondicionadas em frascos estéreis, protegidos de luz e refrigeradas até o momento do exame. Inicialmente, realiza-se a triagem quanto ao tipo de coleta (cistocentese, micção espontânea ou sondagem) e integridade do material (cor, aspecto, volume, armazenamento).

A análise bioquímica é conduzida com fitas reagentes (ex: Bio10®), que permitem avaliação de parâmetros como pH, proteínas, glicose, corpos cetônicos, bilirrubina, urobilinogênio, sangue, hemoglobina, leucócitos e nitrito. A fita é imersa na amostra por três segundos e retirado o excesso de urina com papel tolha, repousando em uma superfície plana por um minuto, depois os resultados são comparados com a escala colorimétrica do fabricante (fornecidos na embalagem) e classificação da proteína é interpretada como negativo, traços, +, ++, +++ ou ++++.

Quando a proteína urinária apresenta valores acima de 100 mg/dL, procede-se à diluição da amostra (200 µL de urina em 4,8 mL de água destilada), em tubo de ensaio identificado. Na fase subsequente, a amostra é distribuída em três tubos:

Tubo 1 (branco): sem reagente, usado como controle;

Tubo 2 (padrão): com reagente padrão do kit;

Tubo 3 (amostra): contendo o reagente específico para quantificação da proteína.

Após homogeneização, a amostra diluída é submetida a banho-maria seco a 37 °C por cinco minutos e, em seguida, processada no equipamento bioquímico para proteína/creatinina urinária (UPC).

No novo equipamento utilizado no laboratório, as amostras de urina passam inicialmente por centrifugação a 1.500 rpm por 5 minutos. Após esse processo, o material é distribuído em dois frascos de análise e um microtubo tipo Eppendorf® de

1,5 mL. O microtubo é encaminhado diretamente ao equipamento, onde é realizada a leitura e a quantificação da relação proteína/creatinina urinária (UPC).

O segundo frasco é reservado para a análise do sedimento urinário. Para isso, utiliza-se a última porção da urina, que é homogeneizada e utilizada para a confecção de lâminas de microscopia. A leitura em microscópio óptico permite a identificação de células epiteliais, hemácias, leucócitos, cilindros, cristais e microrganismos, fornecendo informações essenciais para a interpretação diagnóstica.

As amostras já processadas são acondicionadas sob refrigeração (2–8 °C) ou congelamento (–20 °C por até 30 dias), assegurando a possibilidade de reanálise e rastreabilidade antes do descarte final.

- Exames microbiológicos e parasitológicos

Foi realizado o cultivo para dermatófitos, coproparasitológico (Paratest®), pesquisa de fungos e ácaros com hidróxido de potássio.

#### C) Fase pós-analítica

A fase pós-analítica inicia-se após a obtenção de resultados válidos e termina com a emissão do laudo e interpretação pelo solicitante (KUIBIDA; BORGES, 2021).

No laboratório, os resultados eram conferidos, digitados no sistema e submetidos à validação pela responsável técnica antes da liberação final.

#### 2.1.5 Casuística

Durante o período de análise, de 16/06/2025 a 15/08/2025, foram realizados 8.835 exames laboratoriais no setor de patologia clínica veterinária, abrangendo diferentes espécies animais.

Os testes mais solicitados incluíram hemogramas com pesquisa de hemoparasitas ( $n=2.011$ ) e perfis bioquímicos ( $n=6.701$ ), sendo o hemograma um dos exames mais frequentes na rotina laboratorial veterinária, devido à sua ampla aplicabilidade clínica, baixo custo e praticidade. Entre os exames bioquímicos, destacaram-se as dosagens de albumina, ALT, AST, bilirrubina total e frações,

cálcio iônico e total, colesterol, creatinina, fosfatase alcalina (FA), GGT, glicose, potássio, lipidograma, sódio, proteína C reativa, proteínas totais e frações, fósforo, triglicerídeos e ureia. Outros exames realizados foram urinálise ( $n=86$ ), parasitológicos de fezes ( $n=24$ ) – pelo método direto, pesquisa de protozoários – e parasitológicos de pele ( $n=13$ ) pelo método direto. A distribuição mensal dos exames apresentou variação, com maior demanda em julho e menor no mês de agosto, possivelmente associada a fatores sazonais e epidemiológicos.

**Tabela 1.** Distribuição de amostras avaliadas no Diagno Vet, por tipo de exame, no período de 16/06/2025 a 15/08/2025.

Exames Acompanhados	Quantidade
Hemogramas com pesquisa de hemoparasitas	2.011
Dosagens bioquímicas séricas	6.701
Urinálises	86
Exames parasitológicos de fezes	24
Exames parasitológicos de pele	13
<b>Total</b>	<b>8.835</b>

**Fonte:** Arquivo pessoal (2025).

### 2.1.5 Considerações Finais

Dentre os exames realizados, o hemograma destacou-se como o mais solicitado na rotina laboratorial, evidenciando sua ampla aplicabilidade clínica e sua importância como exame de triagem em diferentes espécies.

A análise hematológica, associada às informações fornecidas pelos médicos veterinários sobre a condição clínica e as suspeitas diagnósticas de cada paciente, favoreceu o desenvolvimento de um olhar crítico e minucioso, indispensável para a interpretação adequada dos resultados. Além disso, houve contato com perfis bioquímicos séricos, urinálises, coproparasitológicos, exames sorológicos e cultivos microbiológicos, os quais ampliaram a compreensão sobre a diversidade e a complexidade da rotina laboratorial veterinária.

Observou-se que a maior parte dos exames realizados correspondeu a hemogramas e dosagens bioquímicas, o que reflete tanto o perfil de atendimento do laboratório quanto a realidade epidemiológica da região. Essa casuística

evidenciou a importância de utilizar os exames de triagem como base para direcionar investigações complementares.

De forma geral, a experiência no Diagno Vet contribuiu não apenas para o aprimoramento das habilidades técnicas, mas também para o desenvolvimento de competências interpessoais, como trabalho em equipe, responsabilidade, organização e comprometimento com a qualidade. Assim, o estágio cumpriu plenamente seu papel formativo, representando um marco de transição entre a vida acadêmica e a prática profissional, e reafirmando a relevância da Patologia Clínica como ferramenta essencial para a Medicina Veterinária.

## **2.2 Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LABAC – FAMEZ/UFMS)**

### **2.1.1 Local de Estágio**

O estágio supervisionado foi realizado no Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LABAC-FAMEZ/UFMS), localizado na Avenida Senador Filinto Müller, 2443, Bairro Pioneiros, Campo Grande/MS, no período de 08 de setembro a 03 de outubro de 2025, sob orientação e supervisão da Profª Drª Cássia Rejane Brito Leal, com carga horária total de 120 horas, distribuídas em turnos de 6 horas diárias.

O Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (HOVET-UFMS) é reconhecido como referência no Estado, disponibilizando serviços especializados em diferentes áreas da Medicina Veterinária. Inserido nesse contexto, o LABAC constitui um núcleo fundamental de apoio diagnóstico ao HOVET, atuando na realização de exames bacteriológicos e micológicos. Além das amostras provenientes da rotina clínica do hospital, o laboratório recebe amostras externas, como também materiais oriundos de atividades de ensino, pesquisa e extensão relacionadas aos cursos de Medicina Veterinária e Zootecnia.

As atividades práticas desenvolvidas no Laboratório de Bacteriologia Veterinária (Labac-FAMEZ/UFMS) estão regulamentadas pelos respectivos Procedimentos Operacionais Padrões (POPs), os quais asseguram padronização, qualidade e rastreabilidade dos processos executados.

Durante o estágio, foi possível acompanhar e participar de uma ampla gama de procedimentos laboratoriais, incluindo: coleta de amostras para exames bacteriológicos e microbiológicos; cultivo primário de amostras; coloração de Gram; provas bioquímicas específicas para a identificação de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas; análise bacteriológica de urina; contagem padrão em placas; hemoculturas; testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA); e estudo dos princípios de antimicrobianos indicados por espécie animal.

Além disso, o laboratório desempenha atividades voltadas para o diagnóstico de dermatofilose; exames diretos para pesquisa de *Malassezia* spp.; pesquisa de fungos em pelos para detecção de dermatófitos; coleta de amostras e cultura para identificação de *Sporothrix* spp.; microcultivo para caracterização de fungos; congelamento e armazenamento de bactérias em micoteca; e análises relacionadas a cultivos celulares.

Essas práticas proporcionam ao estagiário contato com metodologias modernas de diagnóstico em bacteriologia e micologia veterinária, consolidando a integração entre conhecimento teórico e experiência prática.

### **2.1.2 Estrutura Física**

A estrutura física do laboratório é bem organizada e funcional, composta por instalações que atendem de forma adequada às necessidades administrativas e operacionais. O LABAC é um laboratório equipado para atender demandas de ensino, pesquisa, extensão e pós-graduação, além de atuar no diagnóstico bacteriano e micótico. Conta com três ambientes principais (*figura 8*):

1. A sala técnica constitui o principal espaço destinado ao recebimento e processamento das amostras, preparo de meios de cultura e execução das provas bioquímicas. O ambiente é equipado com bancadas de trabalho, bicos de Bunsen, estufas (para secagem de vidrarias e para incubação de culturas), microscópios ópticos, cabine de fluxo laminar, vórtex e o sistema automatizado Vitek® 2 Compact, utilizado para identificação bacteriana e determinação de sensibilidade antimicrobiana.

Conta ainda com geladeiras separadas para armazenamento de materiais limpos e contaminados, pias, vidros e utensílios laboratoriais esterilizados, micro-ondas, além de materiais destinados às técnicas de coloração.

O setor dispõe de recipientes adequados para descarte (lixo preto, lixo branco e Descarpack®), bem como alças e agulhas bacteriológicas para semeadura, discos impregnados com antimicrobianos utilizados em testes de sensibilidade (TSA), além de balança de precisão, mesa de estudos e armários destinados à organização e armazenamento dos materiais e Procedimentos Operacionais Padrão (POPs).

2. A sala administrativa é destinada à elaboração e liberação de laudos, bem como à organização de materiais e ao processo de esterilização de vidrarias e resíduos biológicos. O setor dispõe de autoclaves, utilizadas tanto para a esterilização de materiais de uso rotineiro quanto para o descarte seguro de materiais contaminados.

O espaço conta ainda com computador para emissão de laudos e registros laboratoriais, bancadas de apoio, mesa para estudos e registros, materiais empregados nas aulas práticas. A estrutura contribui para o adequado fluxo de atividades administrativas e acadêmicas, garantindo a rastreabilidade, a biossegurança e a qualidade dos processos realizados no laboratório.

3. A sala de estoque é destinada ao armazenamento e organização de insumos essenciais à rotina laboratorial. Nesse ambiente são mantidos materiais de uso frequente, como placas de Petri, micropipetas, reagentes químicos, meios de cultura preparados, fitas reagentes, vidrarias e demais utensílios necessários para os procedimentos microbiológicos.

O setor dispõe ainda de armários para acondicionamento de materiais, cadeiras e geladeira exclusiva, destinada à conservação de reagentes e insumos que requerem controle de temperatura.

A organização física favorece o fluxo adequado das fases laboratoriais e assegura o cumprimento das boas práticas de biossegurança.



**Figura 8** – Planta baixa representativa do laboratório de bacteriologia Veterinária (FAMEZ/UFMS). Legenda: 1 – Sala Técnica; 2 – Sala Administrativa; 3 – Sala de Estoque. (Imagem meramente ilustrativa). Fonte: Arquivo pessoal (2025).

### 2.1.3 Atividades Desenvolvidas

O LABAC conta com a supervisão de uma responsável técnica e o apoio de um médico-veterinário residente, que desempenham papel essencial na rotina laboratorial. Durante o estágio, acompanhei de forma direta as atividades desenvolvidas pelo residente, que incluem a execução dos exames bacteriológicos e micológicos, bem como a emissão e liberação dos laudos diagnósticos.

As atividades iniciaram-se com o recebimento, triagem das amostras, etapa que compreende a conferência da requisição devidamente preenchida e assinada pelo médico-veterinário solicitante, seguida da avaliação das condições de viabilidade do material. Amostras coletadas de forma inadequada, acondicionadas em recipientes impróprios ou com suspeita de contaminação são rejeitadas, conforme critérios do POP vigente. Após a conferência, as amostras são anotadas no caderno de registro e recebem a numeração para controle.

Na rotina do Labac, os meios de cultura que acompanhei a utilização foram: Ágar Mueller-Hinton, Ágar Brain Heart Infusion (BHI), Ágar MacConkey, Ágar

Manitol e Ágar Sangue. Esses meios são fundamentais para o crescimento, isolamento e identificação de microrganismos, uma vez que fornecem nutrientes específicos de acordo com as exigências bacterianas. O preparo segue etapas padronizadas: a pesagem do meio de cultura, dissolução em água destilada, aquecimento, autoclavagem e posterior distribuição em placas de Petri estéreis. Após o resfriamento e a solidificação, as placas são etiquetadas com o nome do meio, a data de fabricação e o destino, armazenadas sob refrigeração em ambiente destinado à geladeira de materiais limpos, assegurando sua estabilidade até a utilização (*Figura 9*).



**Figura 9** – Preparação de meio de cultura para placa de ágar BHI. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

A seleção do meio de cultura deve considerar o tipo de amostra biológica recebida e a suspeita clínica associada. Por exemplo, secreções e tecidos são geralmente cultivados em BHI ou Ágar Sangue; amostras de trato intestinal e fezes, em Ágar MacConkey; urina em BHI e MacConkey (*Figura 10*); e casos de isolamento de *Staphylococcus* spp., em Ágar Manitol. Esse direcionamento possibilita maior eficiência diagnóstica e aumenta a chance de recuperação dos microrganismos de interesse.



**Figura 10** – Placa de ágar MacConkey com isolado de *Klebsiella oxytoca* proveniente de amostra de urina. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

A técnica de semeadura por esgotamento é a mais frequentemente empregada, permitindo a distribuição do inóculo ao longo da placa para obtenção de colônias isoladas, fundamentais para a realização de provas bioquímicas subsequentes e identificação precisa dos agentes. Esse método é essencial para evitar sobreposição bacteriana e assegurar resultados confiáveis na rotina microbiológica.

Na sequência, eram realizados os procedimentos técnicos de cultivo microbiológico, que incluíram:

- Semeadura em meios de cultura específicos e inespecíficos (Ágar BHI, Ágar Sangue, Ágar Mueller-Hinton, Ágar Mac Conkey, Ágar Manitol), de acordo com a natureza da amostra e a suspeita clínica, realizando uma triagem das amostras, para posterior identificação.
- Semeadura por esgotamento e estrias direcionadas, visando o isolamento de colônias puras para diferenciação das colônias.

- Exames diretos em materiais biológicos, como raspados de pele, pelos, secreções e fragmentos de tecidos, utilizando colorações como Gram, Panótico, Ziehl-Neelsen e Cotton Blue.

A identificação bacteriana e micológica foi conduzida por meio da aplicação de provas bioquímicas diferenciais, incluindo TSI (Triple Sugar Iron), SIM (Sulfeto, Indol e Motilidade), Citrato de Simmons, Ureia, Lisina, Fenilalanina, Cetrimide e OF (Oxidação e Fermentação da Glicose) (*Figura 11*). Esses testes permitem avaliar características metabólicas e enzimáticas específicas, auxiliando na diferenciação entre cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-negativos e gêneros de importância clínica, como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* e *Corynebacterium*.



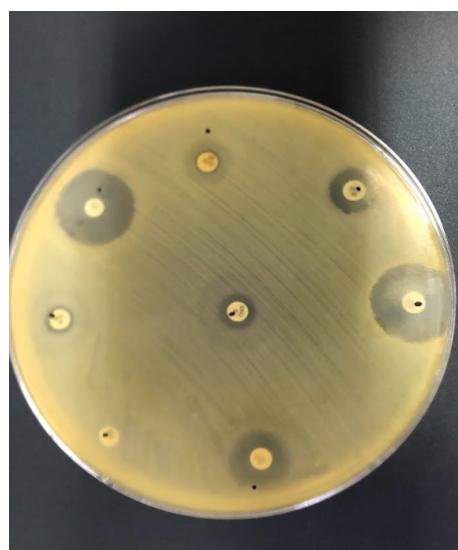
**Figura 11** – Provas bioquímicas empregadas na identificação bacteriana: Ágar Triplo Açúcar Ferro (TSI), Meio Sulfeto de Hidrogênio, Indol e Motilidade (SIM) e Teste do Citrato de Simmons. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Adicionalmente, testes básicos como catalase e oxidase foram empregados como triagem inicial, possibilitando uma separação preliminar entre grupos bacterianos e direcionando a escolha das provas confirmatórias subsequentes.

Essa abordagem integrada assegura maior precisão na identificação microbiológica e garante a confiabilidade dos resultados laboratoriais.

O estágio também contemplou a realização de testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA), conduzidos conforme o Procedimento Operacional Padrão do laboratório. As análises foram realizadas em placas de ágar Mueller-Hinton (MH), previamente preparadas e padronizadas. Para o ensaio, é utilizado as colônias previamente isoladas, e depois confeccionada uma suspensão bacteriana em solução salina estéril, ajustada visualmente à turbidez equivalente ao padrão Mc Farland 0,5, que corresponde a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL. A semeadura foi feita de forma homogênea na superfície das placas, com swab estéril, sobre as quais foram depositados discos impregnados com antimicrobianos de uso rotineiro, selecionados de acordo com a espécie animal e o local de origem das amostras.

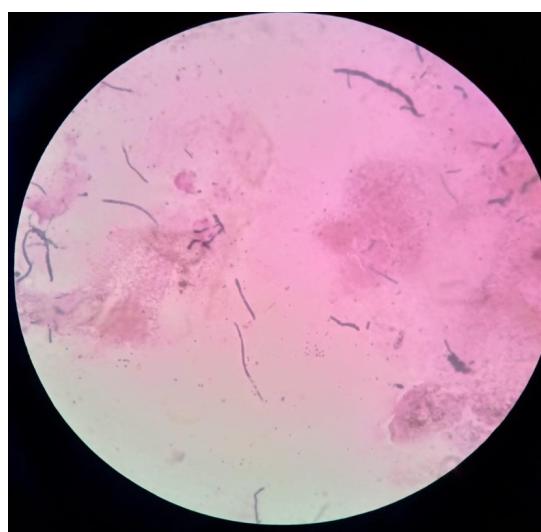
Após a incubação em estufa bacteriológica a 36 °C por 16–24 horas, procedeu-se à mensuração dos halos de inibição (figura 15), comparando-os com os critérios interpretativos descritos nas tabelas de referência padronizadas pelo laboratório. Essa metodologia possibilitou avaliar a sensibilidade e a resistência dos microrganismos frente a diferentes antimicrobianos, sendo etapa essencial no suporte diagnóstico e terapêutico (*Figura 12*).



**Figura 12** – Placa de Ágar MH – TSA contendo discos de antimicrobianos, evidenciando halos de inibição que demonstram perfis de sensibilidade e resistência bacteriana. Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Outros procedimentos acompanhados incluíram:

1. Pesquisa para *Malassezia spp.*: O material é obtido com swab estéril da orelha ou pele, distribuído em lâmina por rolamento, seguido de coloração rápida (Panóptico) ou pela própria coloração de Gram. A interpretação atual dos resultados segue critérios qualitativos, ausência (negativo) ou presença (positivo).
2. Exames diretos para fungos: São coletados pelos íntegros, preferencialmente da borda ativa da lesão, por arrancamento, acondicionados em lâminas e tratados com hidróxido de potássio (KOH) a 20%, solução que promove a digestão da queratina e evidencia hifas e esporos. Após 5 minutos de clarificação, as amostras são observadas em microscópio óptico com objetiva de 40x.
3. Análise bacteriológica de urina: Com contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) utilizando alça calibrada para interpretação de acordo com o método de coleta.
4. Hemocultura: Realizada em caldo BHI com posterior plaqueamento em ágar sangue para isolamento e identificação.
5. Diagnóstico de dermatofilose e malasseziose: Por meio de exame direto e coloração de Gram (*Figura 13*).



**Figura 13** – Dermatofilose positiva, evidenciada pela presença de filamentos ramificados.

Fonte: Arquivo pessoal (2025).

6. Cultivo de fungos: Com identificação morfológica em microscopia óptica.
7. Congelamento e manutenção de cepas bacterianas: No acervo da micoteca do laboratório.
8. Acompanhamento de atividades de ensino, pesquisa e extensão: Em que o laboratório atua como suporte acadêmico, permitindo a integração entre a prática laboratorial e a formação científica.
9. A esterilização de materiais: É realizada pela responsável técnica do laboratório. Após a autoclavagem, os materiais passam por secagem em estufas específicas e, posteriormente, são embalados de maneira padronizada, garantindo sua integridade até o próximo uso.

#### **2.2.4 Casuística**

Durante o período de setembro e início de outubro de 2025, foram processadas 55 amostras clínicas no Laboratório de Microbiologia Veterinária, provenientes de diferentes espécies animais e encaminhadas para exames bacteriológicos e micológicos.

As amostras analisadas compreenderam uma ampla variedade de materiais biológicos, incluindo secreções otológicas, cutâneas e nasais, além de conteúdo purulento de abscessos, secreções de implantes, pelos, leite, fragmentos de pele e de órgãos, urina, sangue, fezes. Esses materiais foram encaminhados para investigação de agentes infecciosos de relevância clínica veterinária, abrangendo tanto microrganismos bacterianos quanto fúngicos.

A distribuição das amostras por espécie animal demonstrou predomínio de cães e gatos, refletindo o perfil de atendimento clínico do laboratório (*Tabela 2*). Além dos animais domésticos, também foram recebidas amostras de bovinos, equinos, primatas não humanos, répteis, aves e peixes ornamentais, evidenciando a diversidade de espécies contempladas.

**Tabela 2** – Distribuição das amostras recebidas pelo Laboratório de Diagnóstico Veterinário da FAMEZ-UFMS, segundo a espécie animal atendida, no período de janeiro a junho de 2025.

Espécie	Quantidade	Porcentagem
Canino	19	34,5%
Felino	19	34,5%
Bovino	8	14,5%
Primata	2	3,6%
Réptil	1	1,8%
Equino	1	1,8%
Ave	1	1,8%
Peixe	1	1,8%
<b>Total</b>	<b>55</b>	<b>100%</b>

**Fonte:** Arquivo pessoal (2025).

Observou-se que cães e gatos representaram conjuntamente 69% das amostras processadas, seguidos pelos bovinos (14,5%), o que confirma a maior demanda por diagnósticos envolvendo animais de companhia e de produção.

De modo geral, os exames bacteriológicos representaram pouco mais da metade das solicitações ( $\approx 51\%$ ), enquanto os exames micológicos corresponderam a cerca de 46% do total. Essa distribuição evidencia a rotina diagnóstica equilibrada do laboratório, voltada tanto à detecção de bactérias patogênicas quanto de fungos oportunistas, principalmente em amostras de origem dermatológica.

## 2.2.5 Considerações Finais

O estágio curricular obrigatório desenvolvido no Laboratório de Bacteriologia Veterinária da FAMEZ/UFMS possibilitou a vivência prática em um ambiente de referência no diagnóstico microbiológico veterinário, consolidando os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo da graduação. As atividades englobaram desde o recebimento, registro e processamento de amostras clínicas até a aplicação de técnicas laboratoriais especializadas, como preparo de meios de cultura, colorações diferenciais, provas bioquímicas e testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA).

A rotina de trabalho também permitiu o contato direto com protocolos oficiais e Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), reforçando a importância da padronização e biossegurança em laboratórios de diagnóstico. Além disso, a

integração com a equipe técnica, residente e docentes proporcionou a troca de experiências e contribuiu para o desenvolvimento de habilidades interpessoais, como organização, responsabilidade e trabalho em equipe.

Em síntese, o estágio cumpriu seu papel formativo ao aproximar o acadêmico da realidade profissional, ampliando sua compreensão sobre a relevância do diagnóstico laboratorial como ferramenta essencial para a clínica médica veterinária, para a pesquisa científica e para a saúde pública, especialmente no contexto das doenças infecciosas de importância zoonótica.

### **3. PROJETO DE PESQUISA: AÇÃO ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE AROEIRA (*Schinus terebinthifolius*)**

#### **3.1 Introdução**

As infecções bacterianas de pele e ouvido externo estão entre as principais afecções que acometem cães e gatos, sendo as piodermites e as otites externas de grande relevância na prática clínica veterinária, sendo frequentemente associadas a recidivas e à necessidade de tratamentos prolongados. Estima-se que até 70% dos atendimentos em clínicas e hospitais veterinários esteja relacionada a dermatopatias (SCOTT *et al.*, 2001), e dentre essas, as de origem bacteriana apresentam elevada ocorrência (GASPARETTO *et al.*, 2013).

A elevada frequência dessas afecções é decorrente do fato de que a pele atua como órgão sentinela, refletindo tanto processos primários do próprio tecido quanto alterações advindas de outros sistemas (SCOTT *et al.*, 1996). Essas enfermidades são frequentemente associadas a microrganismos oportunistas da microbiota cutânea, que em condições de desequilíbrio podem desencadear quadros clínicos de difícil resolução (SÁ *et al.*, 2018).

As piodermites costumam manifestar-se por eritema, prurido, áreas de alopecia e lesões pustulosas ou pápulo-pustulosas rasas; apesar de, na maioria das vezes, não representarem quadros graves, provocam desconforto considerável e podem perpetuar-se quando a causa de base não é adequadamente controlada. O manejo combina medidas de higiene cutânea e terapia antimicrobiana, priorizando formulações tópicas nos casos localizados e reservando antibióticos

sistêmicos para apresentações extensas ou profundas, com indicação de cultura e antibiograma nas recorrências (FIGUEIREDO, 2020).

O uso frequente e, por vezes, indiscriminado de antimicrobianos na clínica veterinária contribui para a seleção de cepas resistentes, o que representa um obstáculo crescente tanto para o tratamento de animais quanto para a saúde pública. Reconhecendo esse cenário, a Organização Mundial da Saúde publicou, em 2017, uma lista de bactérias prioritárias para o desenvolvimento de novos antimicrobianos, ressaltando a urgência na busca por alternativas terapêuticas, incluindo produtos de origem natural (WHO, 2017).

Essa preocupação também se reflete na área da Medicina Veterinária, na qual o aumento da resistência bacteriana tem impulsionado o interesse por extratos vegetais com potencial antimicrobiano, como o da aroeira (*Schinus terebinthifolius*), já avaliado em diferentes estudos *in vitro* (ARAÚJO *et al.*, 2017).

Nesse contexto, a utilização de plantas medicinais ganha destaque como uma possibilidade de intervenção terapêutica complementar. A *Schinus terebinthifolius* Raddi, conhecida popularmente como aroeira-vermelha, é uma espécie nativa do Brasil, tradicionalmente utilizada no tratamento de processos infecciosos e inflamatórios (AZEVEDO *et al.*, 2015).

Estudos demonstraram que seus extratos apresentam atividade antimicrobiana frente a bactérias de relevância clínica, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, ainda que a intensidade do efeito varie de acordo com o tipo de solvente utilizado na extração (LIMA *et al.*, 2004; DEGÁSPARI, *et al.*, 2005).

O extrato aquoso da aroeira destaca-se por sua simplicidade de obtenção, baixo custo e ampla disponibilidade, características que reforçam seu potencial como alternativa terapêutica na Medicina Veterinária (PEREIRA *et al.*, 2021). Nesse sentido, torna-se relevante investigar sua ação frente a bactérias isoladas de casos clínicos, como as associadas a otites e piodermites em pequenos animais, contribuindo para a busca de estratégias que auxiliem na redução da dependência de antibióticos convencionais e minimizem os riscos associados à resistência bacteriana.

Este trabalho teve como objetivo geral Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) frente a bactérias isoladas de casos clínicos de otite e dermatite em pequenos animais, da rotina do Laboratório de bacteriologia / FAMEZ – UFMS.

### 3.2 Revisão de literatura

#### 1. Importância das infecções bacterianas na clínica de pequenos animais

As infecções bacterianas cutâneas e otológicas estão entre os principais desafios enfrentados na clínica de cães e gatos, tanto pela frequência quanto pela recorrência dos quadros. Segundo Scott, Miller e Griffin (2001), as dermatopatias representam até 70% dos atendimentos em pequenos animais.

Um estudo confirmou a relevância dessas enfermidades ao constatarem alta prevalência de doenças infecciosas entre mais de cem casos avaliados, com destaque para as de infecções de origem bacteriana, que representaram (15,2%) de 37 diagnósticos relatados (GASPARETTO *et al.*, 2013).

A piodermite canina, geralmente associada a *Staphylococcus pseudintermedius*, é considerada uma das dermatoses mais comuns, podendo evoluir de formas superficiais, caracterizadas por pápulas e pústulas, até formas profundas, como furunculose bacteriana. A persistência e as recidivas estão frequentemente ligadas ao caráter oportunista da microbiota cutânea, que, em situações de desequilíbrio, assume comportamento patogênico (SÁ *et al.*, 2018). De maneira semelhante, as otites externas bacterianas apresentam elevada incidência e envolvem microrganismos como *Staphylococcus spp.*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*, cuja resistência terapêutica agrava o manejo clínico (FIGUEIREDO, 2020).

Assim, as infecções bacterianas em pequenos animais não se restringem ao desconforto do paciente, mas representam um problema de saúde com alta prevalência, que exige manejo criterioso devido à resistência recorrente aos antibióticos, e impacta diretamente no custo e dificuldade dos tratamentos.

#### 2. Resistência antimicrobiana e desafios atuais

A resistência antimicrobiana ocorre quando microrganismos patogênicos param de responder aos medicamentos antimicrobianos. Essa resistência

bacteriana é descrita desde os primeiros usos clínicos desses fármacos. Poucos anos após a introdução da penicilina, já em 1942, foram relatados isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes, em grande parte devido à produção de  $\beta$ -lactamase, enzima capaz de hidrolisar o anel  $\beta$ -lactâmico e inativar o antibiótico (LOWY, 2003).

A resistência antimicrobiana pode ser classificada em dois grandes grupos. A forma intrínseca ocorre quando resulta de características naturais da bactéria, como a impermeabilidade da parede celular ou a ausência de alvos específicos para a droga. Já a forma adquirida decorre de mutações genéticas ou da transferência horizontal de genes mediada por elementos móveis, como plasmídeos, transposons ou bacteriófagos (DUARTE *et al.*, 2019; GEÓRGIA *et al.*, 2022).

O tratamento de dermatoses bacterianas baseia-se no uso de antimicrobianos, mas a administração inadequada recorrente tem favorecido a seleção de cepas resistentes. Brito *et al.* (2001), ao investigarem isolados de *Staphylococcus aureus* de mastite bovina, evidenciaram variação no perfil de sensibilidade frente a dez antibióticos, confirmando o avanço da resistência no contexto veterinário.

A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017) destacou a urgência dessa questão ao listar bactérias prioritárias para o desenvolvimento de novos fármacos, incluindo estafilococos resistentes e bacilos Gram-negativos multirresistentes. Revisões sistemáticas reforçam que os mecanismos de resistência incluem produção de  $\beta$ -lactamases, alterações de sítio-alvo, bombas de efluxo e formação de biofilmes, dificultando a ação de antimicrobianos tradicionais (DUARTE *et al.*, 2019). No caso de *Staphylococcus epidermidis*, a capacidade de produzir biofilme torna as infecções persistentes e de difícil resolução (OTTO, 2009).

A resistência bacteriana pode se manifestar de formas distintas entre microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, em função de suas características estruturais. As bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp.*, apresentam parede celular espessa de peptidoglicano, que favorece mecanismos como a produção de  $\beta$ -lactamases e a alteração de proteínas ligadoras de penicilina, conferindo resistência a  $\beta$ -

lactâmicos. Já as Gram-negativas, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, possuem uma membrana externa adicional que atua como barreira física e química, além de apresentarem com frequência bombas de efluxo e genes de resistência adquiridos em plasmídeos, fatores que contribuem para a multirresistência. Essas diferenças estruturais explicam por que muitas Gram-negativas representam atualmente prioridade crítica nas listas internacionais de patógenos resistentes, enquanto Gram-positivas permanecem entre os principais agentes de infecções persistentes em animais e humanos (WHO, 2017; DUARTE *et al.*, 2019; GEÓRGIA *et al.*, 2022).

No contexto da terapia antimicrobiana, os fármacos são frequentemente classificados pela sua ação sobre a população bacteriana. Agentes bacteriostáticos impedem a multiplicação microbiana, permitindo que as defesas do hospedeiro controlem e eliminem o patógeno; já os bactericidas produzem morte celular bacteriana, reduzindo rapidamente a carga infecciosa. Esses conceitos são bem estabelecidos em revisões de farmacodinâmica e infectologia, que também destacam que a utilidade clínica de um ou outro grupo depende do sítio de infecção, do patógeno e do estado imune do paciente (PANKEY; SABATH, 2004). Esse cenário justifica a busca por novas abordagens, incluindo o estudo de produtos naturais com atividade bactericida e bacteriostático, capazes de reduzir a dependência dos antibióticos convencionais.

### **3. Fitoterapia e uso de plantas medicinais**

O desenvolvimento da fitoterapia no Brasil tem raízes tanto no uso popular das plantas medicinais quanto em iniciativas institucionais que buscaram integrar esse conhecimento à ciência. Um marco importante foi a criação em 1971, do Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais (PPPM) Central de Medicamentos do Ministério da Saúde (CEME), que selecionou espécies nativas com base em sua utilização tradicional para avaliação farmacológica e toxicológica. Embora o programa não tenha resultado na produção imediata de medicamentos, representou a primeira política pública nacional voltada para transformar o saber popular em base científica para a fitoterapia, além de estimular pesquisas, formar profissionais e consolidar infraestrutura em universidades. Essa trajetória

consolidou a fitoterapia como prática de relevância no Brasil, aliando tradição e inovação científica (BARATTO, 2021)

O conceito de planta medicinal abrange espécies vegetais que possuem substâncias ativas capazes de exercer efeitos benéficos no organismo, utilizadas tradicionalmente no manejo de diferentes enfermidades. Seu uso é, em muitos casos, fundamentado na experiência popular e em saberes transmitidos por gerações, sem que necessariamente haja padronização ou validação científica de eficácia. Por outro lado, o fitoterápico representa um estágio mais avançado desse conhecimento: trata-se de um produto obtido a partir de uma planta medicinal, preparado com controle de qualidade e padronização de constituintes químicos, e submetido a registro em órgãos regulatórios, como a ANVISA, de forma a assegurar sua eficácia terapêutica e segurança para o paciente (DI SOUZA, 2023; BRASIL, 2006). Essa diferenciação é relevante porque estabelece a ponte entre o saber tradicional e a ciência, reconhecendo a importância do uso popular, mas ressaltando a necessidade de validação e regulamentação para aplicação clínica.

A fitoterapia tem sido reconhecida como prática complementar, especialmente após a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), aprovada pelo Decreto nº 5.813/2006. Essa política busca integrar o uso de plantas medicinais ao Sistema Único de Saúde (SUS), garantindo segurança, eficácia e incentivo à pesquisa (BRASIL, 2006).

A biodisponibilidade corresponde à quantidade e à velocidade com que um princípio ativo atinge a circulação sistêmica após sua administração, constituindo parâmetro fundamental para avaliar a eficácia terapêutica de compostos vegetais. Antes disso, ocorre a etapa de bioacessibilidade, definida como a capacidade dos fitoquímicos de estarem disponíveis para absorção no trato digestivo. Esse processo é influenciado por fatores como digestibilidade, tipo de cultivar, processamento, concentração de fibras, vitaminas e outros constituintes que podem potencializar ou reduzir a absorção. Aspectos individuais — como genética, idade, sexo, estado de saúde, microbiota intestinal e uso concomitante de medicamentos — também interferem de forma significativa na absorção e no aproveitamento dos compostos (BARROS *et al.*, 2021).

Os fitoquímicos ainda passam pela biotransformação, principalmente no fígado, através da ação de enzimas que podem ativar substâncias, gerar metabólitos ou favorecer a excreção. Esse processo pode tanto potencializar quanto reduzir os efeitos terapêuticos. Um exemplo é a curcumina, cuja biodisponibilidade oral limitada pode ser aumentada quando associada à piperina, substância que interfere em seu metabolismo e prolonga sua permanência no organismo. Dessa forma, compreender os fatores que modulam a biodisponibilidade é essencial para assegurar que os efeitos farmacológicos esperados das plantas medicinais realmente se concretizem, garantindo uma aplicação científica e segura da fitoterapia (BARROS *et al.*, 2021).

A avaliação da qualidade tanto das matérias-primas vegetais, conhecidas como insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAV), quanto dos fitoterápicos já formulados, exige atenção à diversidade biológica das plantas e à complexidade de seus constituintes químicos. Para garantir eficácia e segurança, é essencial confirmar a identidade botânica das espécies, diferenciando-as de outras morfológicamente semelhantes ou taxonomicamente próximas. Além disso, torna-se necessária a quantificação rigorosa dos metabólitos secundários de interesse terapêutico, já que esses compostos influenciam diretamente os efeitos clínicos. Assim, os procedimentos incluem: Análises botânicas macro e microscópicas, aliadas ao perfil genético da planta; Testes de pureza; e Análises qualitativas e quantitativas de marcadores químicos, que funcionam como parâmetros de padronização (PEREDA-MIRANDA, 2021).

#### **4. Tipos de Extratos e Influência do Solvente**

Na farmacognosia, a classificação dos extratos vegetais depende do método de preparo e da composição química resultante. O extrato aquoso, obtido por infusão, decocção ou maceração em água, concentra preferencialmente compostos polares, como taninos e sais minerais. Os extratos alcoólicos ou etanólicos apresentam maior capacidade de solubilizar flavonoides, alcaloides e óleos essenciais, estando frequentemente associados a efeitos antimicrobianos mais pronunciados. O extrato glicólico, preparado em solução de propilenoglicol, caracteriza-se pela estabilidade e pelo uso em formulações tópicas, especialmente dermatológicas. Já a tintura é uma solução hidroalcoólica menos concentrada, de

preparo simples, tradicionalmente utilizada tanto por via oral como tópica. Estudos demonstram que a escolha do solvente exerce influência direta sobre as propriedades físico-químicas e farmacológicas dos compostos extraídos, modulando sua atividade biológica (MOREIRA *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2017; BRAGA *et al.*, 2021).

A escolha do solvente influencia diretamente o perfil fitoquímico, pois determina quais metabólitos secundários serão extraídos e em que concentração e viabilidade de aplicação clínica (PRADO, 2005; LIMA *et al.*, 2006; DEGÁSPARI *et al.*, 2022).

## 5. Visão botânica e usos tradicionais da aroeira

A aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), pertencente à família Anacardiaceae e ao gênero *Schinus*, é uma espécie nativa da América do Sul amplamente distribuída no território brasileiro. Suas características botânicas incluem folhas compostas, flores pequenas e frutos do tipo drupa, que mudam do verde para o vermelho na maturação.

*Schinus terebinthifolius* é uma árvore de porte médio, que geralmente atinge entre 5 e 7 metros de altura. Seu tronco é lenhoso, cilíndrico e apresenta casca rugosa de coloração marrom-acinzentada. As folhas são perenes, aromáticas, de disposição alternada e do tipo composta por número ímpar de folíolos, com pecíolo de tamanho mediano (AZEVEDO *et al.*, 2015).

Na medicina popular, a planta é tradicionalmente utilizada no tratamento de feridas, inflamações, distúrbios ginecológicos e respiratórios. Amorim e Santos (2003), em ensaio clínico randomizado, confirmaram a eficácia de gel vaginal de aroeira no tratamento da vaginose bacteriana, demonstrando segurança e efeito antimicrobiano em humanos.

A aroeira é rica em polifenóis, como taninos, xantonas, flavonóides, possui também compostos como taninos e terpenos encontrados em óleos essenciais e lipídios fenólicos e derivados, identificados em diferentes análises químicas, com atividades antimicrobiana, anti-inflamatória, cicatrizante e antioxidante (CORREIA *et al.*, 2006; GILBERT *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2021). Esses compostos

explicam não apenas os usos populares, mas também o potencial farmacológico para aplicações antimicrobianas (PEREIRA *et al.*, 2021)

Estudos fitoquímicos realizados com *Schinus terebinthifolius* permitiram o isolamento de diversos constituintes fenólicos ativos, entre eles galato de etila, galato de metila, miricetina, miricetrina e quercitrina, todos classificados como polifenóis. Esses compostos foram identificados a partir do fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas, guiado por ensaios de atividade antioxidante. Os testes demonstraram que tais substâncias apresentam elevado potencial anti-radicalar, sugerindo que são responsáveis pela atividade antioxidante observada nos extratos da espécie. Além disso, ésteres do ácido gálico e flavonoides derivados da miricetina e da quercetina mostraram-se mais ativos que o α-tocoferol em ensaios comparativos, reforçando o papel desses metabólitos no efeito antioxidante da aroeira (CERUKS *et al.*, 2007).

O óleo essencial da planta apresenta elevada complexidade química, em ensaio realizado com *Schinus terebinthifolius* e *Schinus molle*, ambos de ocorrência no Brasil, observou-se efeito fungicida in vitro frente a fitopatógenos como *Alternaria spp.*, *Botrytis spp.*, *Colletotrichum spp.* e *Fusarium spp.*. O óleo essencial de *S. terebinthifolius* apresentou atividade mais pronunciada contra *Botrytis spp.*, resultado associado à presença de compostos majoritários como α-pineno, sabineno e biciclogermacreno. Esses achados reforçam a versatilidade farmacológica da espécie e corroboram seu uso tradicional como planta medicinal de propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória e cicatrizante (SANTOS *et al.*, 2010).

Em termos de atividade biológica, diferentes pesquisas comprovaram os efeitos farmacológicos da espécie, tais como: ação antimicrobiana (DEGÁSPARI *et al.*, 2005), anti-inflamatória (MEDEIROS *et al.*, 2007), antifúngica (SANTOS *et al.*, 2010) e até antitumoral (QUEIRES *et al.*, 2013). Esses resultados confirmam o potencial terapêutico da aroeira, justificando seu uso tradicional e despertando interesse para aplicações farmacêuticas e veterinárias.

## 6. Atividade antimicrobiana dos extratos de aroeira

Estudos realizados com os frutos de *Schinus terebinthifolius* evidenciaram que a atividade antimicrobiana da espécie está diretamente relacionada ao tipo de solvente empregado na extração. Degáspari *et al.* (2005), observaram que o extrato alcoólico apresentou inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Bacillus cereus* ATCC 11778, com halos de 9 mm e 11 mm, respectivamente, enquanto o extrato aquoso não demonstrou atividade significativa frente às cepas avaliadas. A análise química revelou a presença de compostos fenólicos como apigenina, ácido elágico e ácido siríngico no extrato alcoólico, em contraste com pequenas quantidades de naringina detectadas no extrato aquoso. Além disso, o teor de fenólicos totais foi consideravelmente superior no extrato alcoólico (685 µg equivalentes de catequina/g) em comparação ao aquoso (88 µg eq. catequina/g), o que justifica a maior eficácia antimicrobiana observada. Esses achados reforçam a importância dos compostos fenólicos, em especial os flavonoides, na atividade antimicrobiana da aroeira.

O extrato aquoso de *Schinus terebinthifolius* tem sido objeto de avaliação quanto ao seu espectro de ação antimicrobiana. Em ensaio conduzido por Lima *et al.* (2004), observou-se atividade significativa frente a bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*, com halos de inibição em torno de 11 mm na concentração de 5.000 µg/mL, enquanto *Escherichia coli* não apresentou sensibilidade. A atividade foi atribuída principalmente à presença de taninos e outros metabólitos secundários, como alcaloides, esteroides e chalconas, compostos reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e cicatrizantes. Esses resultados reforçam a relevância do extrato aquoso da aroeira como fonte natural de substâncias bioativas com potencial terapêutico.

Em outro estudo a atividade antibacteriana de *Schinus terebinthifolius* foi avaliada frente a *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* por meio de extratos aquosos e etanólicos obtidos de folhas e cascas. Os resultados demonstraram que nenhuma das preparações testadas apresentou efeito inibitório contra *S. epidermidis*. Em contrapartida, o extrato etanólico das folhas mostrou atividade frente a *S. aureus*, formando halos de inibição de 7 mm e 9 mm nas

concentrações de 1,0 mg/mL e 5,0 mg/mL, respectivamente. Os extratos aquosos não evidenciaram ação antimicrobiana significativa. Esses achados reforçam que a eficácia da aroeira depende tanto da parte da planta utilizada quanto do tipo de solvente empregado na extração, sugerindo que os compostos fenólicos presentes nas folhas podem estar associados ao maior potencial inibitório observado (PACHECO *et al.*, 2022).

Estudos demonstram que a associação de *Schinus terebinthifolius* com outras espécies vegetais pode ampliar seu espectro antimicrobiano. Greatti *et al.* (2014), verificaram que a combinação de extratos de aroeira e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) apresentou maior atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas do que os extratos isolados, sugerindo um efeito sinérgico entre os compostos fenólicos presentes nas duas espécies.

Estudos recentes reforçam a importância da *Schinus terebinthifolius* como fonte de compostos bioativos com ação antimicrobiana. Santos *et al.* (2024) investigaram a influência da sazonalidade no teor de compostos fenólicos e nas atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas de aroeira-vermelha. Constatou-se que os extratos obtidos no verão apresentaram maior atividade antimicrobiana, com ação bactericida e bacteriostática contra quatro das cinco cepas bacterianas avaliadas, além de atividade fungicida frente a *Candida albicans* e *Candida glabrata*. Por outro lado, os extratos de inverno se destacaram pela maior atividade antioxidante, o que evidencia a relevância de fatores ambientais na produção de metabólitos secundários. Em um contexto aplicado, Freitas *et al.* (2021), demonstraram que o óleo essencial da espécie apresentou eficácia antimicrobiana significativa contra microrganismos da cavidade oral, sendo incorporado em uma formulação de enxaguante bucal. A solução contendo óleo de aroeira foi comparada à clorexidina 0,12% e mostrou-se mais eficaz após sete dias de uso contínuo, sugerindo potencial terapêutico alternativo no controle do biofilme oral. Esses achados demonstram que a atividade da aroeira é influenciada por fatores sazonais, pelo tipo de solvente utilizado na extração e que seu óleo essencial pode ser explorado em formulações fitoterápicas com aplicação clínica.

### 3.3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.3.1 Material e métodos

Os ensaios foram conduzidos conforme metodologias recomendadas para avaliação da atividade antimicrobiana por Ostrosky *et al.* (2008) e os ensaios de microtitulação seguiram o protocolo descrito pelo CLSI (2023), com adaptações aplicadas às condições experimentais deste estudo.

- Local

O projeto de pesquisa foi conduzido em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, no Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMEZ/UFMS), no período de maio a setembro de 2025.

- Material vegetal

Foi utilizado Extrato Fluido de Casca de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), diluição a 50%, adquirido da empresa Bianquímica®, Lote 002659, CNPJ 01.122.059/0001-15.(embalagem de 100 mL, puro, prensado a frio, certificado, contendo teor alcoólico). Antes da utilização, o extrato foi armazenado em geladeira (temperatura de 2°C a 4°C) e protegido da luz.

- Amostras bacterianas

Foram analisadas 24 bactérias (*Tabela 3*) provenientes do acervo da micoteca do Laboratório de Bacteriologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (FAMEZ/UFMS), devidamente cadastrada no SISGEN sob o número C1276 69392. As cepas utilizadas incluíram isolados clínicos de origem canina e felina, provenientes de casos de infecções de pele e ouvido, bem como cepas de referência da American Type Culture Collection (ATCC), utilizadas como controles em testes laboratoriais. positivos nos ensaios microbiológicos, por apresentarem características genéticas e fenotípicas estáveis, que asseguram a reproduzibilidade e a confiabilidade dos resultados obtidos, cada cepa registrada recebe um número de identificação único.

Entre os isolados Gram-positivos, foram avaliados exemplares de *Staphylococcus spp.* coagulase positiva e *Streptococcus spp.*. Dentre os Gram-negativos, foram incluídos isolados de *Proteus spp.*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli*, *Pasteurella sp.*, *Pantoea agglomerans* e

*Enterobacter aerogenes*. No grupo das cepas-padrão ATCC, foram testados *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus intermedius* 29663, *Salmonella typhimurium* 14028 e *Shigella sp.* 12022.

**Tabela 3** – Espécies bacterianas isoladas de amostras clínicas processadas no Laboratório de Diagnóstico Veterinário da FAMEZ-UFMS e utilizadas nos ensaios de sensibilidade ao extrato de *Schinus terebinthifolius*.

Bactéria	Espécie	Origem
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	25923
<i>Staphylococcus intermedius</i>	ATCC	29663
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC	14028
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC	12022
<i>Proteus spp.</i>	Canina	1133
<i>Pseudomonas spp.</i>	Canina	1107
<i>E.coli</i>	Felina	1166
<i>Pasteurella sp.</i>	Canina	1033
<i>Staphylococcus spp.</i> (Coagulase +)	Felina	1170
<i>Staphylococcus spp.</i> (Coagulase +)	Canina	1058
<i>Staphylococcus spp.</i> (Coagulase +)	Canina	1152
<i>Pantoea agglomerans</i>	Canina	1158
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Canina	1074
<i>Proteus mirabilis</i>	Canina	92/25
<i>Streptococcus spp.</i>	Canina	1003
<i>Pseudomonas spp.</i>	Canina	972
<i>E.coli</i>	Canina	1096
<i>Pseudomonas spp.</i>	Canina	1112
<i>Streptococcus spp.</i>	Canina	1031
<i>Pantoea agglomerans</i>	Felina	1098
<i>Pasteurella sp.</i>	Canina	1057
<i>Staphylococcus spp.</i> (Coagulase +)	Canina	1060
<i>E. coli</i>	Canina	1062
<i>Staphylococcus spp.</i> (Coagulase +)	Canina	211/25

**Fonte:** Arquivo pessoal (2025).

As amostras bacterianas foram obtidas do acervo da micoteca, descongeladas e reativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI), com incubação em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. Decorrido esse período, foi avaliada a turvação do caldo e viabilidade, as cepas bacterianas foram semeadas em placas de ágar BHI para repique e incubação por 18-24h, observou-se a manutenção do isolamento por meio da coloração de Gram e da análise macromorfológica das colônias.

- Preparação do inóculo

As bactérias isoladas consideradas viáveis foram utilizadas para o preparo das suspensões bacterianas em solução salina estéril. A padronização foi realizada por meio do ajuste da turbidez em comparação com o padrão McFarland 0,5, correspondente a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL.

- Protocolo 1 – Ensaio de difusão em discos

A) Preparação dos discos:

Discos de papel-filtro de 6 mm foram confeccionados manualmente, acondicionados em frascos de vidro e esterilizados em autoclave. Folhas de alumínio, previamente embaladas em papel Craft, também foram esterilizadas. Em capela de fluxo laminar, prepararam-se diluições seriadas do extrato em solução salina a 0,9%, em tubos numerados de 1 a 10. O primeiro tubo recebeu 2 mL do extrato puro, e os subsequentes 1 mL de salina, procedendo-se à diluição sucessiva até o tubo 10. Obtiveram-se, assim, as seguintes concentrações: 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625%, 0,78125%, 0,390625% e 0,1953125%. Os discos foram imersos em cada diluição, secos em temperatura ambiente sobre papel-alumínio estéril e armazenados em frascos de vidro sob refrigeração, mantendo-se sempre em mínima exposição à luz.

B) Teste de sensibilidade antimicrobiana (TSA):

As suspensões bacterianas padronizadas foram semeadas em placas de ágar Mueller-Hinton com auxílio de swabs estéreis. Discos impregnados com as diferentes diluições do extrato de aroeira foram aplicados sobre a superfície do meio, e as placas incubadas a 37 °C por 18 a 24 horas. Após o período de

incubação, foram medidos os halos de inibição em milímetros e os resultados foram analisados de forma comparativa.

- Protocolo 2 – Microtitulação

A) Preparação das placas:

Foram utilizadas microplacas de 96 poços, contendo diluições do extrato em caldo BHI nas seguintes concentrações finais: 100%, 75%, 50%, 25%, 12%, 6%, 3% e 1,5%, correspondente a 212,6 $\mu$ g/mL, 159,45 $\mu$ g/mL, 106,30 $\mu$ g/mL, 53,15 $\mu$ g/mL, 26,57 $\mu$ g/mL, 13,28 $\mu$ g/mL 6,64 $\mu$ g/mL, 3,32 $\mu$ g/mL, respectivamente. Em cada poço adicionou-se 10  $\mu$ L da suspensão bacteriana padronizada, com os volumes do extrato e do caldo necessários para completar o volume final de 260  $\mu$ L correspondente à porcentagem desejada do extrato utilizado (*Quadro 1*).

**Quadro 1** – Protocolo utilizado para a microtitulação nos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato de *Schinus terebinthifolius* frente a bactérias de interesse clínico veterinário.

	100%	75%	50%	25%	12%	6%	3%	1,5%
<b>Inóculo</b>	10 $\mu$ L							
<b>Aroeira</b>	250 $\mu$ L	188 $\mu$ L	125 $\mu$ L	63 $\mu$ L	31 $\mu$ L	15 $\mu$ L	7,5 $\mu$ L	3,75 $\mu$ L
<b>Caldo</b>	0	62 $\mu$ L	125 $\mu$ L	187 $\mu$ L	219 $\mu$ L	235 $\mu$ L	243 $\mu$ L	246 $\mu$ L
<b>BHI</b>								

**Fonte:** Arquivo pessoal (2025).

B) Determinação da CIM e da CBM:

As microplacas foram vedadas com filme de PVC e incubadas a 37 °C por 18 a 24 horas. A CIM foi determinada como a menor concentração do extrato capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano visível, avaliado pela ausência de turvação nos poços. Para determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), o conteúdo de cada poço foi semeado em ágar BHI com auxílio de palitos estéreis, sendo novamente incubado a 37 °C por 18 a 24 horas. A ausência de

crescimento indicou efeito bactericida, enquanto a presença de colônias confirmou efeito apenas bacteriostático.

C) Controles e replicação:

O controle negativo consistiu em 250 µL de extrato puro, sem adição de inóculo, enquanto o controle positivo incluiu 250 µL de caldo BHI com 10 µL do inóculo bacteriano. Os experimentos foram realizados em triplicata, e somente foram considerados válidos quando o controle positivo apresentou crescimento e o negativo se manteve estéril. Além disso, os resultados só foram aceitos quando pelo menos duas das três repetições exibiram o mesmo padrão de crescimento.

### 3.3.2 Resultados e Discussão

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do extrato de *Schinus terebinthifolius* capaz de inibir o crescimento bacteriano, sendo determinada pela ausência de turvação nos poços da microtitulação. Diferentemente de outros estudos que utilizam a resazurina como indicador de viabilidade, neste trabalho a avaliação foi realizada apenas pela observação da turvação do meio. Essa metodologia segue critérios já descritos por Ferreira *et al.* (2022) e Zilio (2022), os quais reforçam a aplicabilidade da microtitulação em caldo na análise da atividade antimicrobiana de extratos vegetais.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi avaliada a partir da semeadura do conteúdo dos poços correspondentes à CIM em ágar BHI, considerando-se bactericida a concentração que resultou em ausência de crescimento visível após 18–24 horas de incubação.

A avaliação dos ensaios demonstrou que 100% das bactérias testadas não apresentaram halo de inibição no TSA, indicando ausência de atividade antimicrobiana detectável pelo método. Nos ensaios de microtitulação, observou-se que a CIM foi de 100% para todas as cepas, evidenciando necessidade de altas concentrações do extrato para inibição do crescimento. Já CBM apresentou maior variação: 87,5% dos isolados (21/24) foram inibidos na concentração de 50%, 8,3% (2/24) em 25% e 4,2% (1/24) em 75%.

O TSA não apresentou difusão eficaz no meio sólido. Esse resultado pode estar relacionado à baixa solubilidade ou difusibilidade dos compostos fenólicos no

ágar, aspecto já relatado em estudos com extratos vegetais (OSTROSKY *et al.*, 2008).

Apesar disso, verificou-se que a CBM variou entre 25% e 75%, dependendo da cepa. Por exemplo, *Streptococcus spp.* (1003) e *Staphylococcus intermedius* (29663) apresentaram CBM de 25%, enquanto *Pseudomonas spp.* (972) exibiu CBM de 75%. Esses achados sugerem que, embora o extrato tenha apresentado baixa eficácia inibitória em concentrações reduzidas, nos ensaios de microdiluição em caldo, apresentou efeito bactericida sobre todas as cepas testadas.

A diferença entre os resultados obtidos nos ensaios de difusão em discos (TSA) e microtitulação é relevante para a interpretação da atividade antimicrobiana do extrato de *Schinus terebinthifolius*. Enquanto o método de difusão depende diretamente da capacidade dos compostos bioativos migrarem através do ágar, o que pode limitar a formação de halos quando as substâncias possuem baixa solubilidade ou difusibilidade, a microtitulação promove contato direto entre o extrato e os microrganismos em suspensão, aumentando a exposição aos metabólitos ativos. Essa discrepância tem sido relatada em diversos estudos com extratos vegetais, incluindo investigações com a aroeira-vermelha, nas quais se observou maior eficácia em ensaios de microtitulação quando comparados aos de difusão (LIMA *et al.*, 2004; DEGÁSPARI *et al.*, 2005; OSTROSKY *et al.*, 2008).

De forma geral, os resultados reforçam que o extrato fluido de aroeira possui atividade antimicrobiana *in vitro*, ainda que restrita a altas concentrações, e que sua ação bactericida pode variar conforme a espécie bacteriana e o método utilizado. A presença de compostos fenólicos, como taninos, flavonoides e ácidos fenólicos já descritos em *S. terebinthifolius*, pode explicar os efeitos observados (CERUKS *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2010). Ainda assim, a ausência de halo nos ensaios de TSA evidencia a limitação da técnica de difusão para avaliação desse tipo de extrato.

### **3.3.4 Conclusão**

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o extrato fluido de casca de *Schinus terebinthifolius* apresentou atividade antimicrobiana *in vitro* frente a bactérias de importância clínica veterinária, embora restrita a altas concentrações. Nos testes de difusão em discos (TSA), não foi observada formação

de halos de inibição, indicando baixa capacidade de difusão dos compostos no meio sólido. Em contrapartida, os ensaios de microdiluição revelaram que a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi de 100% para todas as cepas avaliadas, enquanto a Concentração Bactericida Mínima (CBM) variou entre 25% e 75%, evidenciando efeito bactericida mais pronunciado em algumas espécies, sobretudo entre os isolados Gram-positivos.

Esses achados reforçam o potencial do extrato de aroeira como agente antimicrobiano natural, especialmente pela presença de metabólitos secundários como taninos e flavonoides, já reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias. Entretanto, a necessidade de concentrações elevadas para alcançar efeito inibitório destaca a importância de estudos futuros voltados ao fracionamento e padronização dos compostos ativos, bem como à avaliação de formulações otimizadas (como nanoemulsões ou associações com antibióticos) que possam potencializar sua eficácia.

Em síntese, a aroeira configura-se como uma alternativa fitoterápica promissora, podendo contribuir de forma complementar no controle de microrganismos resistentes em medicina veterinária, desde que sejam conduzidas novas investigações para superar suas limitações de difusão e bioatividade em concentrações reduzidas.

#### 4. REFERÊNCIAS

- AMORIM, M. M. R.; SANTOS, L. C. **Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado.** *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 25, n. 2, p. 95-102, 2003.
- ARAÚJO, J. C. et al. **Análise de métodos em testes de extratos de própolis e aroeira.** In: III Seminário Científico da FACIG / II Jornada de Iniciação Científica da FACIG, 09–10 nov, 2017.
- AZEVEDO, C. F. et al. **Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae).** *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Campinas, v. 17, n. 1, p. 26-35, 2015.
- BARATTO, L. C. **A farmacognosia e o estudo das plantas medicinais no Brasil.** In: BARATTO, L. C. (org.). *A farmacognosia no Brasil: memórias da Sociedade Brasileira de Farmacognosia*. Ribeirão Preto: SBFarmaco, 2021. p. 25-44.
- BARROS, C. et al. **Plantas medicinais e fitoterapia: tradição e ciência.** Piracicaba: FEALQ, 2021. DOI: 10.11606/9786589722496.
- BRAGA, A. N. S. et al. **Influência de diferentes solventes na síntese de multilíplices por sol-gel.** *Revista Matéria*, v. 26, n. 2, e12983, 2021. DOI: 10.1590/S1517-707620210002.1283.
- BRASIL. **Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências.** Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 23 jun. 2006.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 6, de 16 de janeiro de 2018. Estabelece critérios para o credenciamento e monitoramento de laboratórios de diagnóstico das doenças Anemia Infecciosa Equina e Mormo.** Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 17 jan. 2018.
- BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Resolução nº 1.321, de 16 de julho de 2020. Dispõe sobre a responsabilidade técnica e a forma de prestação de serviços médico-veterinários em estabelecimentos veterinários e dá outras providências.** Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 20 jul. 2020.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 786, de 13 de março de 2023. Dispõe sobre os requisitos de Boas Práticas para serviços de saúde que realizam atividades laboratoriais.** Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 14 mar. 2023.
- BRITO, M. A. V. P. et al. **Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, n. 5, p. 531-537, 2001.

- BUSH, B. M. *Interpretação e resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais*. 1. ed. São Paulo: Roca, 2004.
- CERUKS, M. et al. **Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 597-599, 2007.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 33rd ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2023.
- CORREIA, S. J. et al. **Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae**. *Química Nova*, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.
- DEGÁSPARI C. H. et al. **Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000300016>.
- DI SOUZA, A. B. Q. **Plantas medicinais, fitoterapia e fitoterápicos: você conhece os termos?** In: VITORELLO, C. B. M. (org.). *Plantas medicinais e fitoterapia: tradição e ciência*. Piracicaba: FEALQ, 2021. p. 29-32. DOI: 10.11606/9786589722496.
- DUARTE, S. M. S. et al. **Revisão sistemática da resistência e farmacodinâmica de antibióticos**. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 5, n. 10, p. 21476-21489, 2019.
- FIGUEIREDO, M. A. **Piodermite em cães: uma revisão**. 2020. Trabalho de Conclusão de Residência em Clínicas Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.
- FREITAS, L. Z. et al. **Análise *in vitro* da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* sobre os principais microrganismos que compõem a microbiota da cavidade oral**. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 7, n. 6, p. 61250-61266, jun. 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-480>.
- GASPARETTO, N. D. et al. **Prevalência das doenças de pele não neoplásicas em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 3, p. 359-362, 2013.
- GILBERT, B. et al. ***Schinus terebinthifolius* Raddi**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2011. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/15842>.
- GREATTI, V. R. et al. **Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) frente a linhagens Gram-positivas e Gram-negativas**. *Salusvita*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.
- KUIBIDA, K. V.; BORGES, C. M. N. **Responsabilidade técnica nos serviços diagnósticos e análises clínicas**. 1. ed. Curitiba: Medvep, 2021. p. 322-329.

LIMA, E. O. et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. *Infarma*, Brasília, v. 16, n. 7/8, p. 77-79, 2006.

LIMA, M. R. F. et al. Atividade antibacteriana do extrato aquoso de *Schinus terebinthifolius* frente a microrganismos multirresistentes. *Infarma*, v. 16, n. 1-2, p. 82-85, 2004.

LOPES, S. et al. *Manual de patologia clínica veterinária*. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2007.

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*, v. 111, n. 9, p. 1265-1273, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI18535>.

MEDEIROS, K. C. P. et al. Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Raddi in inflammatory models. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 23-28, 2007.

MOREIRA, L. M. et al. Influência de diferentes sistemas de solvente água-etanol sobre as propriedades físico-químicas e espectroscópicas dos compostos macrocíclicos feofitina e clorofila. *Química Nova*, v. 33, n. 2, p. 258-262, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000200014.

OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis* — the “accidental” pathogen. *Nature Reviews Microbiology*, v. 7, n. 8, p. 555-567, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2182>.

PACHECO, E. B. A. et al. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos etanólicos e aquosos de *Schinus terebinthifolia* (aroeira-vermelha) e *Cymbopogon nardus* (citronela) frente à *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v. 5, n. 6, p. 24872-24888, nov./dez. 2022. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n6-236>.

PANKEY, G. A.; SABATH, L. D. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of gram-positive bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, v. 38, n. 6, p. 864–8670, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1086/381972>.

PEREDA-MIRANDA, R. O futuro das revistas científicas: projeções para as publicações em Farmacognosia e os desafios na busca por qualidade. In: BARATTO, L. C. (org.). *A farmacognosia no Brasil: memórias da Sociedade Brasileira de Farmacognosia*. Ribeirão Preto: SBFarmaco, 2021. p. 119-128.

PEREIRA, D. P. et al. Potencial biotecnológico da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi): revisão. *Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA/UFMS*, v. 13, n. 1, p. 25-37, 2021.

- QUEIRES, L. C. et al. *In vitro effects of polyphenols extracted from the aroeira plant (*Schinus terebinthifolius* Raddi) on the growth of prostate cancer cells (Lncap, Pc-3 and Du145)*. *Brazilian Journal of Medicine and Human Health*, v. 1, n. 1, p. 71-82, 2013.
- SÁ, I. S. et al. *Piodermite canina: revisão de literatura e estudo da prevalência de casos no Hospital Veterinário Universitário da UFPI*. *PubVet*, v. 12, n. 6, p. 1-5, 2018.
- SANTOS, A. C. A. et al. *Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 2, p. 154-159, 2010.
- SANTOS, T. T. et al. *Influência da sazonalidade no teor de fenóis e nas atividades antioxidante e antimicrobiana do extrato das folhas de *Schinus terebinthifolius* (aoeira-vermelha)*. *Scientia Plena*, Aracaju, v. 20, n. 10, p. 104601, 2024. DOI: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2024.104601>.
- SCOTT, D. W. et al. *Dermatologia de pequenos animais*. 5. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996.
- SCOTT, D. W. et al. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology*. 6. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001.
- SCOFFIN, K. *Hematology analyzers—From complete blood counts to cell morphology*. *LabCompare*, 23 maio 2014. Disponível em: <https://www.labcompare.com/10-Featured-Articles/162042-Hematology-Analyzers-From-Complete-Blood-Counts-to-Cell-Morphology/>. Acesso em: 20 ago. 2025.
- SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- THRALL, M. A. *Bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca, 2007.
- WINN JÚNIOR, W. et al. *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1462 p.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. Geneva: WHO, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- ZILIO, A. L. *Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro da própolis e óleo ozonizado em *Staphylococcus pseudintermedius* multidroga resistente isolado de otite e piodermite superficial de cães*. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2022.