



APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE GRAM PARA AVALIAÇÃO DE SWAB VAGINAL DE ÉGUAS

AIRES, Gabrielle Silveira¹
LEMO, Mariana Dias¹
POZZATI, Vitória Machado^{1*}

BIANCHI, Eloisa²
CORADINI, Marcia Goulart Lopes²
OTTE, Marina Vianna²
ROSSATO, Andresa Dutra Piovesan²
SIMÕES, Michele Da Rosa Scholant²
TEIXEIRA, Bruno Borges Machado²

RESUMO: A técnica de Gram é simples, rápida e com grande capacidade de resolução, permitindo diagnóstico em pronto atendimento local. Além de ser uma técnica com baixo custo diante de sua eficácia. A técnica consiste em diferenciar espécies bacterianas em dois grupos, o grupo das gram-positivas e das gram-negativas, sendo o fator que irá determinar o grupo bactericida a coloração, a composição e propriedades químicas e físicas das paredes celulares. A fim de realizar a técnica de Gram e verificar a presença de bactérias gram-negativas ou gram-positivas, com ênfase na presença de *Streptococcus* e *Lactobacillus*. Por meio de swab tendo princípio ativo com amies carvão em meio foram coletadas amostras vaginais, perineais (higienizado e não higienizado) e da fossa cliteriana em duas éguas (Indiana da Algarroba e Ziguezague da Primavera). Após os swabs foram mantidos em caixa térmica e transportados até o Laboratório de Microbiologia da UNIDEAU de Bagé, após 48 horas foram obtidos os resultados. PH (períneo higienizado) ambos foram 0 presença de unidades formadoras de colônias, já P (períneo não higienizado) a presença de unidades formadoras de colônias foi 3 e 2 respectivamente para Indiana da Algarroba e Ziguezague da Primavera. Já Indiana da Algarroba em sua coleta de FC (fossa clitoriana) apresentou 28 unidades formadoras de

¹ Discentes do Curso de Medicina Veterinária, Nível III 2020/1- Faculdade UNIDEAU – Bagé/RS.

² Docentes do Curso de Medicina Veterinária, Nível III 2020/1 - Faculdade UNIDEAU – Bagé/RS.

*E-mail para contato: vitoriamacpozzati@outlook.com



colônias, porém não houve presença de *E.coli*, em sua V (vagina) houve 26 unidades formadoras de colônias e 24 presenças de *E.coli*. Sua morfologia foi Gram positiva e Gram negativa com presença de *Streptococcus* e *E.coli*. Ziguezague da Primavera apresentou 56 unidades formadoras de colônias em sua FC, e 11 presenças de *E.coli*. Em sua V foram encontradas 2 unidades formadoras de colônias e 2 presenças de *E.coli*, sendo toda a morfologia bacteriana gram positiva com presença de *Lactobacillus* e *Streptococcus*. Concluímos que a técnica de gram trouxe resultados satisfatórios, pois nos proporcionou identificar a morfologia bacteriana, porém para as técnicas E.Coli Petrifilm e semeadura em placa não obtivemos todos os resultados, pois utilizamos o princípio ativo com meio amies carvão, no qual não é recomendado para esta técnica e perdemos algumas amostras.

Palavras-chave: Swab; Bactérias; Éguas; *Streptococcus*; *Lactobacillus*.

Abstract: Gram's technique is simple, fast and with great resolution capacity, allowing diagnosis in local emergency care. In addition to being a low cost technique due to its effectiveness. The technique consists of differentiating bacterial species into two groups, the group of gram-positive and gram-negative, being the factor that will determine the bactericidal group the color, composition and chemical and physical properties of the cell walls. In order to perform the Gram technique and check for the presence of gram-negative or gram-positive bacteria, with an emphasis on the presence of *Streptococcus* and *Lactobacillus*. By swab having active ingredient with amies coal in the medium, vaginal, perineal (sanitized and non-sanitized) and cliterian fossa samples were collected from two mares (Indiana da Algarroba and Zigzag da Primavera). After the swabs were kept in a thermal box and transported to the UNIDEAU Microbiology Laboratory in Bagé, after 48 hours the results were obtained. PH (sanitized perineum) both were the presence of colony-forming units, while P (non-sanitized perineum) the presence of colony-forming units was 3 and 2 respectively for Indiana da Algarroba and Zigzag da Primavera. Indiana da Algarroba, in its collection of CF (clitoral fossa), presented 28 colony-forming units, but there was no presence of *E. coli*, in its V (vagina) there were 26 colony-forming units and 24 *E. coli*. Its morphology was Gram positive and Gram negative with the presence of *Streptococcus* and *E.coli*. Zigzag da Primavera presented 56 colony forming units in its CF, and 11 *E.coli* presences. In its V, 2 colony-forming units and 2 *E.coli* presences were found, with all bacterial morphology gram positive with the presence of *Lactobacillus* and *Streptococcus*. We conclude that the gram technique brought satisfactory results, as it allowed us to identify the bacterial morphology, however for the E.Coli Petrifilm and plate seeding techniques we did not obtain all the results, because we used the active principle with half amies charcoal, in which it is not recommended for this technique and we lost some samples.

Keywords: Swab; Bacteria; Mares; *Streptococcus*; *Lactobacillus*.



1 INTRODUÇÃO

A técnica de coloração de Gram consiste na capacidade da parede celular das bactérias gram-positivas em absorver o corante cristal violeta em seu citoplasma, enquanto as gram-negativas não realizam este efeito, seguido de tratamento com um fixador denominado lugol, seguindo assim o tratamento com um solvente orgânico, etanol-acetona. Este solvente dissolve a porção lipídica das gram-negativas e o cristal violeta-iodo é removido, fazendo a descoloração das células.

Já nas gram-positivas o corante primário é absorvido e as células permanecem coradas, isso se torna possível pelo fato do corante desidratar as paredes celulares espessas e provoca uma contração dos poros do peptídeoglicano. Este estudo visa fazer uma correlação bacteriana entre duas éguas da mesma propriedade, visando o grau de infecção destes animais, se há presença de *Streptococcus* e a quantidade desta bactéria presente em cada animal.

2 DESENVOLVIMENTO

Nesta parte do trabalho serão detalhados o referencial teórico, a metodologia empregada e os resultados encontrados. Contém a exposição ordenada e pormenorizada do assunto tratado do estudo.

2.1 Referencial Teórico

2.1.1 Doenças reprodutivas que acometem éguas

Os problemas infecciosos que acometem as éguas são frequentemente diagnosticados por causar a redução da fertilidade ou quando não diagnosticado e tratado adequadamente pode progredir para uma total infertilidade (GESTÃO DO CAMPO, 2015).

A inflamação do endométrio uterino é chamada de endometrite, se dá em resposta a um tipo de agressão, geralmente por microrganismos. Os diversos tipos de endometrites são



classificados de acordo com a etiologia, que pode ser fisiológica, ou patológica em outros casos (GESTÃO DO CAMPO, 2015).

O sistema reprodutivo da égua possui barreiras físicas (vulva, vagina e cérvix uterino) e biológicas para evitar e combater a infecção e inflamação do útero. Quando há falha em uma das barreiras pode predispor a infecção por bactérias, vírus e fungos. O combate e a eliminação das infecções do útero são realizados pelos mecanismos de defesa (GESTÃO DO CAMPO, 2015).

Quando há falhas nas respostas uterinas ou nas barreiras físicas de proteção, leva a subfertilidade que se relaciona aos endometrites agudas ou crônicas. O diagnóstico é feito a partir da anamnese, além do exame direto do sistema reprodutivo e exames complementares, que auxiliam na escolha do tratamento mais adequado. Quando a endometrite não é tratada ou é tratada inadequadamente, pode causar lesões no endométrio que afeta negativamente o desempenho reprodutivo do animal (GESTÃO DO CAMPO, 2015).

A endometrite é bem comum em éguas, pode ser aguda ou crônica; clínica ou subclínica; infecciosa (bacteriana, fúngica e viral) ou não-infecciosa; pós-parto, induzida pela cobrição ou persistente; não significando que exista necessariamente um só agente causador em cada paciente (LOPES et al., 2010).

As endometrites determinam prejuízos na reprodução de equinos, por causarem baixa fertilidade, morte embrionária e abortamentos (MATTOS et al., 2003 apud ABREU, 2010).

A piometra é uma doença definida com o acúmulo de material mucopurulento no interior do útero, com presença ou não de corpo lúteo, isso depende da lesão do endométrio. A ocorrência da piometra em éguas é multifatorial, sendo uma condição incomum nessa espécie, essa doença é originada geralmente por falha da drenagem fisiológica do líquido uterino decorrente de uma baixa imunidade, devido à presença de aderências cervicais ou à um canal cervical estenosado, sinuoso ou irregular (VAN CAMP, 1986; HUGHES et al., 1979; CAUSEY, 2006).

2.1.2 Swab Vaginal

É uma técnica importante dentro da medicina veterinária, onde podemos observar a microbiota do sistema reprodutor do animal, podendo evitar futuras patologias como a endometrite. Na citologia podemos observar e avaliar as células uterinas como leucócitos,



eritrócitos, bactérias, leveduras, fungos, etc. É uma técnica de baixo custo, de fácil acesso e de prática execução (FACTOR, et al., 2019).

2.1.3 Microrganismos que acometem o sistema reprodutivo em éguas

Na égua o ambiente uterino saudável não apresenta microflora, diferente da vagina que é rica em microrganismos não patogênicos. A presença de *Lactobacillus spp* tem sido pouco investigada em éguas. As bactérias predominantes vaginais são *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus alfa hemolítico*, *Candida*, *Enterobacter spp*, *Bacillus spp*, *Streptococcus beta hemolítico* e *Pseudomonas* (CHAVES, 2011).

As bactérias patogênicas que causam aborto ou morte fetal, são *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (CHAVES, 2011).

Os elementos fúngicos que causam doenças reprodutivas em éguas geralmente são oportunistas e o reservatório primário destes agentes infecciosos é o trato reprodutivo caudal. As espécies mais frequente presente são *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus*. *Enterococcus spp* encontrados na flora vaginal de éguas com bom histórico reprodutivo, mostraram atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, como para *E.coli* e *S.aureu* (MATTOS et al., 2003).

2.1.4 Principais bactérias presentes no sistema reprodutor equino e suas características

Staphylococcus spp, são cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis, não produtores de esporos e catalase positiva com uma ampla distribuição, são os agentes mais comuns nas éguas geralmente essas bactérias são transmitidas durante o coito (CHAVES, 2011).

Pseudomonas spp, são bacilos gram-negativos, que são oportunistas, geralmente relacionado à casos de éguas que receberam repetidos tratamentos com antibióticos. Estas bactérias possuem um grande potencial para produzir infecções uterinas (CHAVES 2011).

Escherichia coli, são bactérias bacilares gram-negativas que não formam esporos. São anaeróbicas facultativas. Se torna de extrema importância aderir a uma boa higienização da égua para evitar a presença destes microrganismos procurando evitar problemas futuros com esta bactéria que é uma das principais causadoras de endometrites (MATTOS et al., 2003).



Aspergillus spp., é o segundo fungo mais importante e relatado em éguas, principalmente as com endometrite micótica. Este fungo é capaz de causar um maior prejuízo ao endométrio por produzir e liberar enzimas como por exemplo, a elastase. É um fungo filamentoso com uma grande habilidade de penetrar em tecidos, provocando infecções (CHAVES, 2011).

2.1.5 *Streptococcus spp.*

O gênero *Streptococcus*, pertencente à família *Streptococcaceae*, tem seus representantes esféricos (cocos) agrupados em forma de cadeia. Também são colorados gram-positivos, como os *Staphylococcus*. Normalmente estes organismos preferem ambientes oxigenados, porém se desenvolvem também em meio anaeróbio. O grupo de bactérias *Streptococcus* é bastante amplo e conta com 100 espécies, podendo infectar muitas espécies animais, causando infecções supurativas como mastite, adenite, metrite, poliartrite, meningite, endometrite, etc (FACTOR et al., 2019).

2.1.6 *Lactobacillus spp.*

É um bacilo gram-positivo que produz componentes como ácido lático, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio, com propriedades para proteger a flora vaginal. É um grande gênero de bactérias com uma série de aplicações interessantes, são gram-positivos, incapazes de formar esporos, desprovidos de flagelos, apresentam forma bacilar ou cocobacilar e são aerotolerantes ou anaeróbios (LIMA, 2005).

Fazem fermentação láctea, são heterotróficos, degradam açúcares para sua sobrevivência, gerando ácido láctico como subproduto. A maioria forma colônias ovóides (LIMA, 2005).

2.1.7 Técnica de Petrifilm

É um sistema de meio de cultura pronto para a amostra que contém nutrientes bile vermelho violeta um agente geleificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glicuronidásica e um indicador que facilita a enumeração da colônia. É uma técnica para contagem de *E.coli* e Coliformes (EC) (MULTIMIDEA, 2009).

A maioria das *E.coli* produz beta-glicuronidase na qual forma um precipitado azul associado a colônia. O filme superior retém o gás formado pelos coliformes e *E.coli* que são



fermentadores de lactose. As *E.coli* produzem gás indicadas pelas colônias azuis a vermelho-azuladas, associadas ao gás retido na Placa Petrifilm EC (dentro de, aproximadamente, o diâmetro de uma colônia) (MULTIMIDEA, 2009).

2.1.8 Técnica de Gram.

O método de Gram é uma técnica de coloração que com o auxílio da microscopia óptica, permite distinguir os dois principais grupos de bactérias. Gram positivas: (coram de roxo) e gram negativas: (coram de rosa) (KASVI, 2019).

Para a realização da técnica é necessário lâminas para microscopia, microscópio, óleo de imersão, tubo contendo solução com água esterilizada e corante: cristal de violeta, álcool, lugol e fucsina (KASVI, 2019).

Técnica de Gram

- 1º- Confeccionar o esfregaço;
- 2º- Corar com cristal de violeta por 60 segundos;
- 3º- Cobrir com Iodo de Gram ou Lugol por 60 segundos;
- 4º- Lavar com esguicho de água destilada;
- 5º- Descorar com álcool a 95%, 10-20 segundos;
- 6º- Lavar com esguicho de água destilada;
- 7º- Corar com fucsina por 20 segundos;
- 8º- Lavar com água destilada, secar e observar ao microscópio;

2.2 Material e Métodos

A coleta das amostras foi realizada na Clínica de Reprodução Intensiva de Equinos (CRIE), localizada na cidade de Hulha Negra- RS. No presente estudo foi utilizado um swab com meio AMIES com carvão, que atua neutralizando algumas toxinas produzidas por alguns tipos de microrganismos. Posteriormente, o swab foi introduzido no animal, buscando coletar uma amostra da parede da vagina e vestibulo do clitóris. No momento da coleta, que foi realizada em duas éguas, na Indiana da Algarroba foi feito um swab sem fazer assepsia no momento inicial, e após, uma coleta com assepsia feita com água e iodo PVPI. Já na Ziguezague da Primavera foi feito o mesmo procedimento, porém, no momento da assepsia foi utilizado

água e detergente neutro. A mudança de componentes para assepsia tem como finalidade observar, (figura 1) qual meio seria mais eficaz para uma boa higienização do animal antes de fazer a coleta com swab como também uma inseminação, evitando assim problemas futuros.



Figura 1- Realização da coleta do swab vaginal. AIRES. C, A, S. 2020. Clínica de Reprodução Intensiva de Equinos. Hulha Negra-RS.

Após a coleta as amostras foram levadas para o Hospital Veterinário São Francisco, Centro Universitário IDEAU - campus Bagé. Primeiramente foi realizada a técnica da placa para contagem de *E.coli*, para isso foram utilizadas oito placas de petrifilm, identificadas conforme coleta e após foi inoculado 1 mL do meio onde o swab estava previamente enriquecido com Caldo de soja, nos discos plásticos. Logo as placas foram fixadas e levadas na estufa a 37°C durante 48 horas.

Logo, a segunda técnica (método convencional) foi realizada através de ágar count, onde primeiro houve a count preparação do Ágar (15 gramas de Plate count ágar para 500 mL de água destilada), após foi deixado em processo de autoclave até virar líquido e esterilizar, podendo usá-lo somente 2 horas após, foi distribuído a solução de Ágar em 8 placas de petri até solidificar em temperatura ambiente, em seguida foi feito o cultivo de microrganismos em Placa de Petri, a inoculação foi realizada na superfície do ágar com auxílio de alça descartável, conforme a Figura 2, e após conduzida a estufa bacteriológica a 37°C em um período de 48 horas.

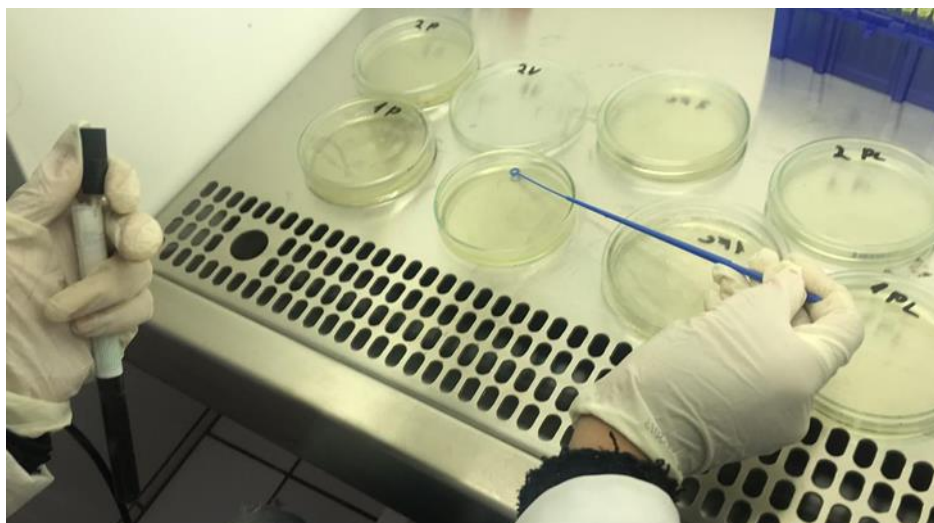


Figura 2 – Realização da técnica de placa de petri. CORADINI, M. G. L. 2020. Hospital Veterinário São Francisco- UNIDEAU, Bagé –RS.

No terceiro processo foi realizada a técnica de gram, na qual foram coletadas bactérias das placas de petri com auxílio de alça descartável, removeu-se uma alíquota de colônia e fez-se a fixação da lâmina de vidro, após seguiu-se a coloração da técnica de gram.

Processos da técnica; A lâmina ficou imerge em cristal violeta durante 1 minuto, após passou para lugol para gram onde permaneceu durante o mesmo período de tempo, no 3º passo foi colocada verticalmente em água com leve fluxo corrente, indo em seguida para o álcool, ficando com este durante 1 minuto e por último ficou sob fucsina fenicada para gram durante o mesmo tempo, passando o ultimo minuto, conforme a figura 3. As lâminas foram depositadas em um recipiente apropriado para secagem. Em minutos foram colocadas em um microscópio para analisar suas propriedades.



Figura 3- Realização da técnica de gram. CORADINI, M. G. L. 2020. Hospital Veterinário São Francisco- UNIDEAU, Bagé –RS.

2.3 Resultados e Discussão

Neste estudo foi possível obter resultados sobre a quantidade de colônias presentes nas amostras, realizando passo a passo todo o procedimento e acompanhando o crescimento bacteriano, também foi possível identificar qual a gram presente e quais as bactérias encontradas.

Abaixo segue resultados da técnica rápida de petrifilm mostrando o número de colônias por amostra para pesquisa de *E. coli* (UFC/cm²) coletadas.

Tabela 1- Quantidade de <i>E. coli</i> presentes nas amostras.		
Identificação	FC	V
Indiana da Algarroba	-	24
Ziguezague da Primavera	11	2

Dados da tabela: FC= Fossa Clitoriana e V= Vagina.

Na sequência a Tabela 2 apresenta os resultados obtidos utilizando a metodologia convencional em agar para contagem de unidade formadora de colônias (UFC/cm²).



Tabela 2- Contagem de unidades formadoras de colônias, com ágar padrão.

Identificação	FC	V	PH	P
Indiana da Algarroba	28	26	-	3
Ziguezague da Primavera	54	2	-	2

Dados da tabela: PH= Períneo Higienizado e P= Períneo não higienizado.

Na Tabela 3 e 4 estão os resultados obtidos após avaliação das colônias, conforme a técnica de gram e morfologia bacteriana encontrada nas amostras coletadas para cada égua.

Tabela 3 Avaliação de Gram e morfologia bacteriana da Indiana da Algarroba.

Local do Material Coletado	Avaliação de Gram	Morfologia
FC	Gram positiva	<i>Streptococcus</i>
FC	Gram negativa	<i>E.Coli</i>
V	Gram positiva	<i>Streptococcus</i>

Tabela 4 Avaliação de Gram e morfologia bacteriana da Ziguezague da Primavera.

Local do Material Coletado	Avaliação de Gram	Morfologia
FC	Gram positiva	<i>Lactobacilos</i>
P	Gram positiva	<i>Streptococcus e Lactobacilos</i>
V	Gram positiva	<i>Lactobacilos</i>

Com base nos resultados da Tabela 2 concluímos que os dois produtos utilizados para higienizar o períneo trazem resultados satisfatórios, pois não houve presença bacteriana em nenhuma das éguas, uma vez que o número de UFC foi 0.

No estudo desenvolvido por Chaves (2011), utilizou-se 36 éguas para observar a prevalência de *Lactobacillus*, em sua pesquisa ela cita que a presença de *Lactobacillus* é comum em mulheres e pouco investigada em éguas, e a bactéria que mais se prevaleceu foi a *Streptococcus*, no entanto, no presente estudo, na amostra da Ziguezague da Primavera houve uma pequena presença de *Streptococcus* (33,3%) (conforme a Figura 6), já a presença de *Lactobacillus* foi

66,7% (figura 5), sendo esta última bactéria presente em todas as suas amostras realizadas pela técnica de Gram, significando que está com flora normal, já a Indiana da Algarroba não houve presença de *Lactobacillus* em nenhuma de suas amostras, apresentando somente *Streptococcus* e *E. coli*.

No estudo de Chaves (2011) foram analisadas todas as bactérias presentes nestas 36 éguas, houve a prevalência de 42% de *Streptococcus*, e 25% de *E.coli*, sendo estas as bactérias predominantes, no presente trabalho, a Indiana da Algarroba obteve a presença de *Streptococcus* com 75%, (figura 6), e de *E.Coli* foi de 25%, conforme a Figura 4, sendo resultados similares a pesquisa de Chaves (2011).

A mesma autora também cita em seu estudo que a presença de *Lactobacillus* é encontrado na flora vaginal de éguas com bom histórico reprodutivo, pois seu estudo tem como objetivo estudar a flora vaginal de éguas doadoras de embriões. Já as éguas escolhidas para o presente estudo não são éguas de reprodução, e sim de esporte, embora uma das éguas tenha apresentado grande prevalência de *Lactobacillus*, a outra não houve nenhuma presença, havendo resultados semelhantes a pesquisa dessa autora para *Streptococcus*.

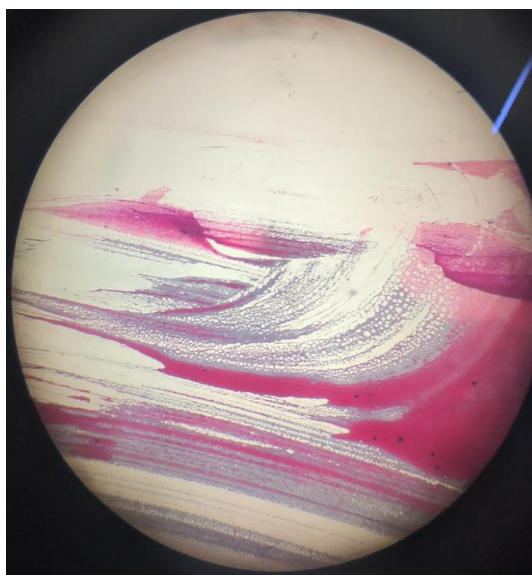


Figura 4 - Imagem de uma lâmina contendo *E. Coli* e *Streptococcus*. LEMOS. M, D. 2020. Hospital Veterinário São Francisco- UNIDEAU, Bagé –RS.

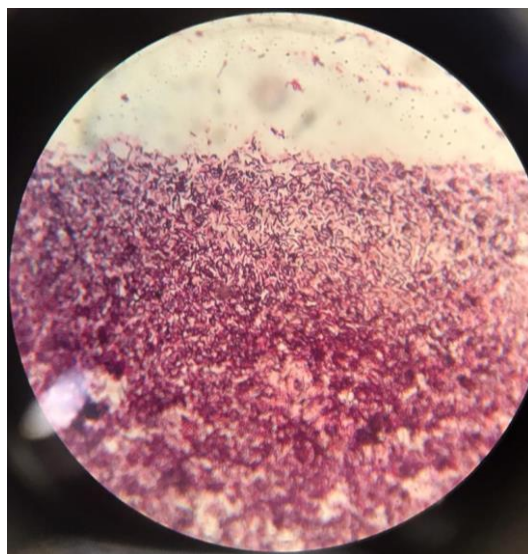


Figura 5- Imagem de uma lâmina contendo *Lactobacillus*. POZZATI, V, M. 2020. Hospital Veterinário São Francisco- UNIDEAU, Bagé –RS.

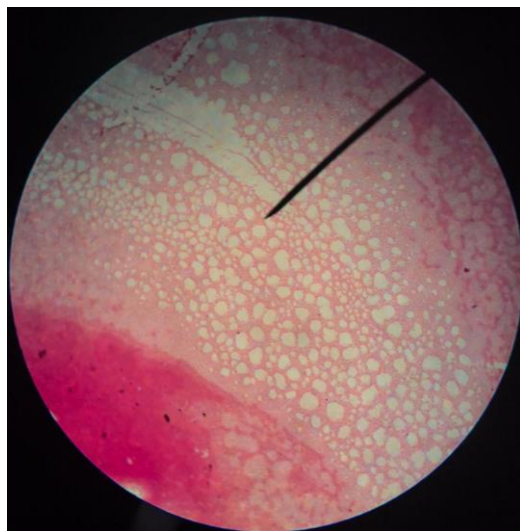


Figura 6- Imagem de uma lâmina contendo *Streptococcus*. LEMOS, M. D. 2020. Hospital Veterinário São Francisco- UNIDEAU, Bagé –RS.

3 CONCLUSÃO



Concluimos que a técnica de Gram consiste em observar e diferenciar bactérias gram positivas das gram negativas, além de ser uma técnica de baixo custo, rápida e fácil nos trouxe um resultado satisfatório, também nos proporcionou identificar as bactérias presentes nas amostras e a saber a qual grupo elas pertencem. Os animais apresentaram microbiologia dentro do padrão desejável, sem identificar significativo patógeno.

Referências

CHAVES.M.M.B.C **Estudo da microbiota vaginal de éguas com ênfase na pesquisa de lactobacilos.** Disponível em:

https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98256/chaves_mmbc_me_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em: 19/05/2020.

FACTOR, L; CRUZ, D. S. G; ORLANDI, C. M. B. **MÉTODOS DE COLETA DE AMOSTRA PARA EXAME DE CITOLOGIA ENDOMETRIAL EM ÉGUAS COM ENDOMETRITE**

Disponível em: [http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n3/p748-755%20\(RB%20731\).pdf](http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n3/p748-755%20(RB%20731).pdf) Acesso em: 17/03/2020.

KALID G. **Coloração de gram** Disponível em: <https://www.infoescola.com/bioquimica/coloracao-de-gram/> Acesso em: 30/02/2020.

KASVI. **Coloração de Gram – O que é bactéria Gram-positiva e Gram-negativa?** Disponível em: <https://kasvi.com.br/bacteria-gram-positiva-gram-negativa/> Acesso em: 18/05/2020.

LIMA, K. G. C. **Otimização das condições de cultivo laboratorial de bactérias lácticas e probióticas e avaliação do comportamento de Lactobacillus no trato gastrointestinal através de modelos simulados in vitro.** Catálogo USP, São Paulo, 12 de Abril de 2005. Disponível em:

<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-14102016-181423/pt-br.php>. Acesso em: 21/05/2020.

MEUS ANIMAIS; **CITOLOGIA VAGINAL EM CADELAS** Disponível em:

<https://meusanimaais.com.br/citologia-vaginal-em-cadelas-conheca-o-exame/> Acesso em: 22/03/2020



Multimedia. **Guia de interpretação, 3M Petrifilm.** Disponível

em:<https://multimedia.3m.com/mws/media/5868570/guia-interpr-petrifilm-ecoli-e-coliformes.pdf>.

Acesso em: 19/05/2020.

PRESTES, N. C; SOUSA, F. E. M. R. **Piometra em éguas: causas e desafios do tratamento clínico-cirúrgico.** Disponível em:[http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n2/p117-121%20\(RB778\).pdf](http://cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n2/p117-121%20(RB778).pdf) Acesso em: 19/05/2020.

RUA, M. A. S; QUIRINO, C. R; JUNIOR, A. B; BARRETO, M. A. P. **MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE ENDOMETRITE EM ÉGUAS LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA DA REPRODUÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO ANIMAL,** Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF. Pesquisadora CNPq. Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em:
<https://www.pubvet.com.br/uploads/be2dc6525a9d7f1b76074d88a8f2dd79.pdf> Acesso em: 22/03/2020.

SIMÃO G. B. M. **Técnica de coloração de gram.** Disponível
em:https://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/22130/mod_resource/content/2/Tecnicas%20de%20Coloracao%20de%20Gram.pdf Acesso em: 29/02/2020.

SOARES .T .M.C - **AVALIAÇÃO GINECOLÓGICA DE ÉGUAS RECEPTORAS DE EMBRIÃO VIA DIFERENTES MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.** Disponível
em:<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/13063/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em: 18/03/2020.

VICENTE J. E. **Coloração de Gram** Disponível
em:<https://www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/coloracao-de-gram> Acesso em: 01/03/2020.



INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO
EDUCACIONAL DE BAGÉ
UNIDEAU DE BAGÉ



	INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO EDUCACIONAL DE BAGÉ LTDA UNIDEAU BAGÉ Curso de Medicina Veterinária – Bacharelado Portaria de autorização MEC nº 636 de 04/09/2015. Publicada no D.O.U. de 08/09/2015
---	---

TERMO DE AUTENTICIDADE
PROJETO DE APERFEIÇOAMENTO TEÓRICO E PRÁTICO

_____, alunos do Curso de Graduação
em _____, da UNIDEAU declaramos ter
o pleno conhecimento do regulamento e normas referentes ao **Projeto de Aperfeiçoamento
Teórico e Prático** e que o realizaremos pelo próprio esforço e sem plágio de obras literárias,
sob orientação dos Professores _____

Declaramos, ainda, ter o pleno conhecimento que poderemos sofrer sanções legais na
esfera civil e penal, caso seja comprovado o plágio e/ou aquisição de trabalhos concluídos, além
do prejuízo de medidas de caráter educacional.

Bagé (RS), ____ de _____ de 20__

Acadêmicos

Assinatura

Professores

Assinatura

