

1 UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
2 PROGRAMA DE RESIDÊNCIA UNIPROFISSIONAL EM MEDICINA VETERINÁRIA

3
4
5
6
7 TRABALHO DE CONCLUSÃO DE RESIDÊNCIA EM PATOLOGIA CLÍNICA
8 VETERINÁRIA

9
10
11
12
13
14
15
16 LETÍCIA CAIXETA DE ARAUJO
17
18
19
20
21
22
23

24 **INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOB CONGELAMENTO NAS**
25 **CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PROTEÍNAS E METABÓLITOS EM AMOSTRAS**
26 **DE BOVINOS DA RAÇA BONSMARA**
27
28
29
30
31
32
33

34 Revista para submissão: Bioscience Journal

35
36 Tutor: Prof. Dr. Fernando Cristino Barbosa
37
38
39
40
41
42
43
44

Uberlândia, 2020

45 **INFLUENCE OF FREEZING STORAGE TIME ON CONCENTRATIONS OF PROTEINS AND**
 46 **METABOLITES IN BONSMARA CATTLE SERUM**

47
 48 ***INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOB CONGELAMENTO NAS***
 49 ***CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE PROTEÍNAS E METABÓLITOS EM AMOSTRAS DE***
 50 ***BOVINOS DA RAÇA BONSMARA***

51
 52
 53 **ABSTRACT**

54
 55 This study aimed to analyze the stability of proteins and serum metabolites of blood serum stored at
 56 different freezing periods (-20°C). Were analyzed 80 serum samples from Bonsmara cattle from a farm in
 57 Uberlândia - MG. Blood samples were collected in tubes without anticoagulant (Vacutainer®) and
 58 processed in automated chemistry analyzer ChemWell™ calibrated (Calibra H) and gaged with universal
 59 control serum (Qualitrol) using commercial kits from Labtest Diagnostics®. The concentrations of total
 60 protein (PT), albumin (ALB), globulin (Glob) = PT-ALB, ALB:Glob ratio, creatinine (Crea), urea,
 61 cholesterol (COL) and triglycerides were determined in each serum sample on days 0, 30 and 60. Since
 62 the data did not meet normality, to compare the results obtained between the days of storage, we chose to
 63 use the medians and the nonparametric Kruskal-Wallis test. The values found for the analyzed
 64 constituents were, for day 0, 30 and 60, respectively: PT (g/dL) 7.79 ± 0.17 , 6.72 ± 0.17 , 6.82 ± 0.10 ;
 65 ALB (g /dL) 3.08 ± 0.03 , 2.85 ± 0.05 , 2.49 ± 0.09 ; Glob (g/dL) 4.64 ± 0.18 , 3.72 ± 0.14 , 4.49 ± 0.14 ;
 66 ALB:Glob ratio (g/ dL) 0.68 ± 0.02 , 0.77 ± 0.03 , 0.59 ± 0.03 ; Crea (mg/dL) 1.34 ± 0.03 , 1.61 ± 0.05 ,
 67 1.24 ± 0.06 ; urea (mg /dL) 25.3 ± 0.99 , 24.4 ± 1.17 , 18.85 ± 1.23 ; COL (mg/ dL) 109.08 ± 5.72 , $108.75 \pm$
 68 2.66 , 88.25 ± 4.02 and TRI (mg/ dL) 34.4 ± 1.01 , 21.3 ± 1.32 , 25.95 ± 1.55 . The largest reductions from
 69 day 0 to day 30 were observed for PT, Glob and TRI, and from 0 to 60 days were ALB, ALB:Glob ratio,
 70 Urea, COL and TRI. There was a statistical difference ($p < 0.05$) in all parameters in at least one of the
 71 analyzed times. It was concluded that the stability of all constituents changed when the samples were
 72 stored under freezing, which indicates the importance of immediate processing of the samples after
 73 collection.

74
 75 Keywords: serum biochemistry, stability, reactive, storage time.

76
 77
 78 **INTRODUÇÃO**

79
 80 A determinação de perfis bioquímicos, realizados a partir de soro e plasma sanguíneos, são
 81 importantes ferramentas no auxílio do diagnóstico e acompanhamento terapêutico de enfermidades que
 82 acometem os animais domésticos. Os constituintes bioquímicos do soro variam desde o nascimento até a
 83 idade adulta, e atuam na identificação de possíveis alterações do funcionamento hepático, pancreático,
 84 renal, ósseo, muscular, cardíaco e do trato gastrointestinal (PINELLI et al., 2017) logo, a análise desses
 85 parâmetros reflete a situação metabólica dos tecidos (OLIVEIRA et al., 2016).

86 A interpretação dos exames bioquímicos sanguíneos é complexa, uma vez que os constituintes
 87 podem variar entre si devido à raça, idade, estresse, dieta, manejo, clima (OLIVEIRA et al., 2016) ou
 88 devido a alterações biológicas resultantes de processos patofisiológicos (COMIS, 2006). Além disso,
 89 alguns aspectos críticos durante a fase pré-analítica (coleta, transporte, armazenamento) podem
 90 comprometer a estabilidade da amostra. Estudo demonstrou que erros na fase pré-analítica foram os
 91 principais responsáveis por falhas nos resultados laboratoriais, correspondendo a aproximadamente 62%
 92 dos erros (KOURI et al., 2005). Logo, para que as alterações patológicas sejam identificadas, as
 93 variações pré-analíticas e analíticas devem ser mínimas a fim de não interferirem na elaboração do laudo
 94 no laboratório e na interpretação dos resultados pelo clínico (COMIS, 2006).

95 A estocagem de amostras biológicas, principalmente do soro sanguíneo, seja refrigerada ou
 96 congelada, é uma prática comum para a posterior realização de exames bioquímicos (ROSATO, 2007),
 97 sendo que o ideal é a análise do soro imediatamente após a coleta da amostra e retração do coágulo
 98 (PINELLI et al., 2017). Na rotina clínica, o processamento de amostras no menor tempo possível impõe-

99 se como um fator de limitação, especialmente para o profissional que atua no campo (OLIVEIRA et al.
100 2011). Diante desse contexto, há o risco de obtenção de resultados não confiáveis e até mesmo o menor
101 aproveitamento das amostras devido ao armazenamento inadequado e outros fatores (ROSATO, 2007).

102 Com o objetivo de avaliar a estabilidade de constituintes bioquímicos séricos em bovinos da raça
103 Bonsmara, determinou-se as concentrações de proteínas (albumina, proteína total, globulinas e relação
104 albumina:globulina) e metabólitos (creatinina, ureia, colesterol e triglicérides) em amostras de soro no
105 dia da coleta e aos 30 e 60 dias de congelamento a -20°C.

106

107

108 **MATERIAIS E MÉTODOS**

109

110 O experimento foi conduzido em uma fazenda no município de Uberlândia – MG. Foram
111 coletadas amostras de sangue por punção da veia jugular externa em 80 bovinos machos e fêmeas, jovens
112 e adultos de idades variadas, saudáveis, da raça Bonsmara, selecionados aleatoriamente. Foram coletados
113 de cada animal 10 mL de sangue por venopunção da jugular externa, utilizando-se agulhas 25 x 0,8 mm,
114 acopladas a tubos secos, estéreis, com ativador de coágulo (Vacutainer®). Em seguida, as amostras
115 foram transportadas em caixas isotérmicas ao Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da
116 Universidade Federal de Uberlândia, onde foram processadas.

117 Imediatamente após a chegada ao laboratório, as amostras foram centrifugadas à 720g por 10
118 minutos, o soro obtido foi separado em três alíquotas de 1,0 mL em microtubos (Eppendorf),
119 identificadas, totalizando 240 alíquotas. Das três alíquotas de soro obtidas para cada amostra, uma foi
120 analisada no dia da coleta logo após a separação, a segunda aos 30 e a terceira após 60 dias de
121 congelamento a -20°C, respectivamente. As alíquotas submetidas ao congelamento por 30 e 60 dias
122 foram descongeladas no momento das análises e, em seguida, descartadas. Os resultados obtidos nas
123 análises no dia 0 foram utilizados para comparar com os valores obtidos em outros tempos de
124 armazenamento (dias 30 e 60).

125 As amostras de soro foram processadas em analisador automático multicanal ChemWell™,
126 previamente calibrado (Calibra H) e aferido com soro controle universal (Qualitrol), utilizando kits
127 comerciais da Labtest Diagnóstica®, de acordo com as recomendações do fabricante. Os parâmetros
128 analisados e seus respectivos métodos de determinação foram: Proteínas totais (PT) (Biureto), albumina
129 (ALB) (Verde de Bromocresol), ureia (Enzimático UV), creatinina (Crea) (Cinético Colorimétrico),
130 colesterol (COL) (Enzimático-Trinder), triglicérides (TRI) (Enzimático-Trinder). Foram calculados os
131 valores das globulinas (Glob) e da relação albumina:globulina (ALB:Glob) através da subtração do valor
132 total da proteína pela concentração da albumina, e pelo quociente de albumina com globulina,
133 respectivamente.

134 Como os dados não atenderam a normalidade, para confrontar os resultados obtidos entre os dias
135 de armazenamento, optou-se pela utilização das medianas e o teste não paramétrico Kruskal-Wallis com
136 5% de significância.

137 O projeto de pesquisa seguiu as normas e princípios éticos de experimentação animal, e possui
138 aprovação no Comitê de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia,
139 conforme o protocolo de registro CEUA/UFU nº 053/2018.

140 **RESULTADOS**

141

142

143 **Tabela 1** - Mediana (Md), erro padrão (Ep), média (Me), desvio padrão (Dp) e diferença (%) das concentrações séricas de proteínas totais, albumina,
 144 globulinas, relação ALB:Glob, creatinina, ureia, colesterol e triglicérides de bovinos da raça Bonsmara em amostras mantidas sob congelamento por 30 e 60
 145 dias.
 146

Parâmetro	Md / Me	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Diferença%		
					D0-D30 ¹	D0 – D60 ²	D30 – D60 ³
PT (g/dL)	Md ± Ep	7,79 ± 0,17a	6,72 ± 0,17b	6,82 ± 0,10b	-13,73	-12,45	+1,49
	Me ± Dp	8,13 ± 1,47	6,63 ± 1,51	6,89 ± 0,90	-18,45	-15,25	+3,92
ALB (g/dL)	Md ± Ep	3,08 ± 0,03a	2,85 ± 0,05b	2,49 ± 0,09c	-7,47	-19,16	-12,63
	Me ± Dp	3,08 ± 0,31	2,83 ± 0,48	2,18 ± 0,77	-8,11	-29,22	-22,96
Glob (g/dL)	Md ± Dp	4,64 ± 0,18a	3,72 ± 0,14b	4,49 ± 0,14a	-19,83	-3,23	+20,69
	Me ± Dp	5,06 ± 1,60	3,80 ± 1,24	4,70 ± 1,27	-24,90	-7,11	+23,68
Relação ALB:Glob (g/dL)	Md ± Ep	0,68 ± 0,02b	0,77 ± 0,03a	0,59 ± 0,03c	+13,23	-13,23	-23,37
	Me ± Dp	0,67 ± 0,22	0,82 ± 0,27	0,53 ± 0,27	+22,38	-20,89	-35,36
Crea (mg/dL)	Md ± Dp	1,34 ± 0,034b	1,61 ± 0,052a	1,24 ± 0,06b	+20,15	-7,46	-22,98
	Me ± Dp	1,31 ± 0,30	1,60 ± 0,46	1,38 ± 0,54	+22,13	+5,34	-13,75
Ureia (mg/dL)	Md ± Ep	25,30 ± 0,99a	24,40 ± 1,17ab	18,85 ± 1,23b	-3,56	-25,49	-22,74
	Me ± Dp	26,29 ± 8,85	24,19 ± 10,51	21,74 ± 11,04	-7,98	-17,30	-10,12
COL (mg/dL)	Md ± Dp	109,8 ± 5,72a	108,75 ± 2,66a	88,25 ± 4,02b	-0,95	-19,63	-18,85
	Me ± Dp	129,35 ± 51,13	106,73 ± 23,82	89,46 ± 35,98	-17,48	-30,83	-16,18
TRI (mg/dL)	Md ± Ep	34,40 ± 1,01a	21,30 ± 1,32b	25,95 ± 1,55c	-38,08	-24,56	+21,83
	Me ± Dp	33,53 ± 9,04	22,18 ± 11,76	27,19 ± 13,87	-33,85	-18,90	+22,58

147 **Legenda:** (a,b,c) –Medianas seguidas por letras minúsculas idênticas em uma mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p>0,05) – Kruskal-Wallis.

148 ¹Diferença do dia 0 para o dia 30. ²Diferença do dia 0 para o dia 60. ³Diferença do dia 30 para o dia 60

149 Conforme demonstra a tabela 1, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os
150 parâmetros analisados. Os níveis séricos de proteínas totais apresentaram diferença estatística nos
151 dias 30 e 60 em relação ao dia 0, com redução de 13,73% e 12,45%, respectivamente. Quanto à
152 albumina, houve diferença estatística em todos os momentos, tanto do dia 0 em relação ao dia 60,
153 quanto do dia 30 aos 60, sendo que a maior redução foi do dia 0 para o dia 60, correspondendo a
154 19,16%. As globulinas apresentaram-se estatisticamente diferentes no dia 30 em relação aos dias
155 0 e 60, com redução de 19,83% e aumento de 20,69%, respectivamente. A relação ALB:Glob
156 mostrou-se diferente estatisticamente em todos os tempos, com aumento de 13,23% do dia 0 ao
157 dia 30, e redução de 13,23% do dia 0 ao 60 e de 23,37% do dia 30 ao dia 60.

158 Em relação aos metabólitos, as concentrações de creatinina foram estatisticamente
159 diferentes no dia 30 em relação aos dias 0 e 60, com elevação de 20,15% do dia 0 aos 30 dias e
160 redução de 22,98% dos 30 aos 60 dias de congelamento, respectivamente. A ureia apresentou
161 redução sérica significativa de 25,49% do dia 0 aos 60 dias de congelamento. Quanto ao
162 colesterol, houve diferença estatística dos dias 0 e 30 em relação ao dia 60, com redução de
163 19,63% e 18,85%, respectivamente. Os níveis de triglicérides apresentaram diferença estatística
164 em todos os momentos, sendo que a maior redução observada foi de 38,08%, do dia 0 para o dia
165 30.

166

167

168 **DISCUSSÃO**

169

170 Segundo Dirar et al. (2010), existe falta de consenso sobre o tempo de estocagem adequado
171 para a análise de diversos parâmetros bioquímicos, visto que as informações sobre a estabilidade
172 dos analitos mediante o armazenamento do soro sanguíneo são incompletas e, às vezes,
173 contraditórias. Os resultados deste experimento demonstraram que todos os elementos analisados
174 sofreram alteração à temperatura de -20°C em pelo menos um dos tempos de estoque
175 pesquisados.

176 De acordo com Thrall et al. (2015), os dois principais tipos de proteínas são albumina e
177 globulinas, sendo a albumina a mais abundante no organismo. No presente estudo, os níveis
178 séricos de proteínas totais reduziram significativamente aos 60 dias de congelamento a -20°C ,
179 corroborando com os dados obtidos por Comis (2006) em análise realizada com soro de equinos.
180 Da mesma forma, Giorgetti et al. (1989) observaram uma diminuição significativa nos níveis
181 séricos de proteína total de bovinos quando as amostras foram armazenadas à temperatura de $-$
182 20°C durante 30 e 60 dias. Segundo Blood e Studdert (2002), citados por Comis (2006), isto
183 provavelmente ocorreu devido à desnaturação causada por qualquer alteração não-proteolítica na
184 composição, nas propriedades químicas ou na estrutura de uma proteína original, provocando a
185 perda de algumas ou de todas as suas características próprias ou específicas.

186 Em relação à albumina, a redução significativa dos níveis séricos aos 30 e 60 dias de
187 armazenamento a -20°C condiz com os achados de Giorgetti et al. (1989) em estudo realizado
188 com amostras de soro de bovinos. No experimento de Oliveira et al. (2016), as concentrações da
189 albumina diferiram significativamente por até 90 dias em amostras de soro de equinos congeladas
190 a -20°C , apresentando instabilidade nos resultados a partir do 15º dia, o que pode ser atribuído à
191 sua desnaturação proteolítica. Resultados contraditórios aos relatados por Pinelli et al. (2017), que
192 não observaram alterações nos níveis séricos de albumina em cães quando as amostras foram
193 armazenadas a -20°C em até 180 dias, e por Ehsani et al. (2008), que verificaram o mesmo
194 comportamento da albumina em soro de bovinos mantidos à mesma temperatura em até 24 horas.
195 No estudo de Bordignon et al. (1995), citado por Pinelli et al. (2017), também não se detectou
196 qualquer diferença neste parâmetro em amostras de suínos mediante congelamento a -20°C .

197 As alterações nos valores das globulinas entre os dias 0 e 60 não foram estatisticamente
198 significativas, correspondendo aos resultados obtidos por Rendle et al. (2009) em estudo com
199 soro de equinos armazenados em temperatura ambiente até 72 horas. As reduções nas
200 concentrações séricas de albumina determinaram as diferenças observadas na relação ALB:Glob
201 nos dias 30 e 60 em relação ao dia 0.

202 Os níveis sanguíneos de creatinina são utilizados durante a avaliação da função renal,
203 baseado na capacidade dos glomérulos filtrarem esse metabólito do sangue e eliminarem na urina

204 (HENDRIX, 2005). Rendle et al. (2009) afirmaram ser os valores de creatinina e ureia
205 susceptíveis a sofrerem reduções e aumentos ao longo do tempo de congelamento. O aumento
206 significativo de 20,15% verificado na concentração sérica de creatinina nas amostras de soro
207 congeladas por 30 dias, no presente estudo, seguido de uma redução de 22,98% nas congeladas
208 durante 60 dias em relação às congeladas por 30 dias, contrapõe os achados de Rosato (2007),
209 que constatou ausência de alterações significativas destes metabólitos em amostras de soro canino
210 mantidas a -20°C por 30 dias, e de Doretto (1996), citado por Comis (2006), que observou
211 estabilidade na concentração de creatinina mediante congelamento de soro de bovinos a -20°C
212 durante 90 dias. Os dados obtidos neste experimento corroboraram em partes com os resultados
213 de Fernandes et al. (2001), que demonstraram diferença significativa nos níveis deste metabólito
214 em soro de cães mantidos a -20°C a partir dos 30 dias de armazenamento em relação ao dia 0.

215 A determinação da ureia é fundamental para o diagnóstico clínico do funcionamento
216 hepático e renal, além de ser um biomarcador do estado nutricional dos animais (COMIS, 2006).
217 Neste experimento observou-se a redução dos níveis séricos deste metabólito com 30 e 60 dias de
218 armazenamento do soro à temperatura de -20°C, equiparando aos resultados de Giorgetti et al.
219 (1989) em pesquisa com bovinos e de Fernandes et al. (2001) utilizando soro sanguíneo de cães.
220 Provavelmente, esta redução ocorreu devido à hidrólise alcalina das proteínas ou de outras
221 substâncias amoniogênicas decompostas, uma vez que a síntese da ureia proporciona um
222 mecanismo para a excreção de amônia durante o catabolismo dos aminoácidos. Estabilidade nos
223 valores deste metabólito foi relatada por Oliveira et al. (2011) em pesquisa com soro de cordeiros
224 armazenadas a -20°C por até 28 dias, e por Doretto (1996), citado por Fernandes et al. (2001), e
225 Ehsani et al. (2008) em estudo com amostras de bovinos mantidas à mesma temperatura por até
226 90 dias e 24 horas, respectivamente.

227 O colesterol desempenha papel importante no organismo como precursor de sais biliares,
228 vitamina D, hormônios esteróides e participa da constituição de tecidos e secreções (COPPO et
229 al., 2003). Trata-se de um metabólito que pode ser sintetizado pelo fígado ou obtido através da
230 dieta (ROSATO, 2007). Segundo os resultados apresentados na Tabela 1, houve redução
231 estatística significativa nos níveis de colesterol no dia 60 em relação aos dias 0 e 30,
232 corroborando parcialmente com os resultados de Thorensen et al. (1995), que constataram a
233 instabilidade deste metabólito em amostras de soro canino acondicionadas à temperatura -20°C
234 durante 90 e 240 dias. Contrapõem os achados de Rosato (2007), Oliveira et al. (2011), Pineli et
235 al. (2017) e Ehsani et al. (2008), ao concluírem que as concentrações de colesterol em amostras
236 de soro de diferentes espécies armazenadas à -20°C não diferiram estatisticamente em variados
237 tempos de estocagem.

238 Os triglicérides constituem forma relevante de estocagem de gordura no organismo
239 (ROSATO, 2007). A redução significativa da concentração sérica nas amostras mantidas sob
240 congelamento a -20°C por 30 e 60 dias, contradiz os achados de Ehsani et al. (2008) e Rosato
241 (2007), que observaram estabilidade da concentração de triglicérides em amostras de soro
242 armazenadas a -20°C durante 24 horas e até 90 dias, respectivamente. Analisando amostras de
243 soro de cães acondicionadas à mesma temperatura, Thorensen et al. (1995) verificaram a
244 estabilidade deste constituinte por até 240 dias. Essa diminuição observada no presente estudo
245 pode ser atribuída a uma degeneração do constituinte durante o período de estocagem.

246

247

248 CONCLUSÕES

249

250 Conclui-se que o congelamento da amostra de soro a -20°C por 30 e 60 dias influencia nas
251 concentrações séricas das proteínas, albumina, globulinas, relação ALB:Glob, creatinina, ureia,
252 colesterol e triglicérides. Esses conhecimentos são essenciais na rotina clínica e para o
253 planejamento de estudos epidemiológicos, visto que muitas vezes não é possível realizar o
254 processamento de amostras em um curto espaço de tempo após a coleta.

255

256

257

258

259 **RESUMO**

260

261 Neste trabalho objetivou-se analisar a estabilidade de proteínas e metabólitos séricos de amostras
 262 armazenadas em diferentes períodos sob congelamento (-20°C). Foram analisadas 80 amostras de
 263 soro de bovinos da raça Bonsmara de uma fazenda no município de Uberlândia – MG. As
 264 amostras de sangue foram colhidas em tubos com ativador de coágulo (Vacutainer®) e
 265 processadas em analisador automático multicanal ChemWell™, previamente calibrado (Calibra
 266 H) e aferido com soro controle universal (Qualitrol), utilizando kits comerciais da Labtest
 267 Diagnóstica®. Determinou-se em cada amostra de soro as concentrações de: proteína total (PT),
 268 albumina (ALB), globulina (Glob) = PT-ALB, relação ALB:Glob, creatinina (Crea), ureia,
 269 colesterol (COL) e triglicérides (TRI), nos dias 0, 30 e 60. Como os dados não atenderam a
 270 normalidade, para confrontar os resultados obtidos entre os dias de armazenamento, optou-se pela
 271 utilização das medianas, e o teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Os valores encontrados para os
 272 constituintes analisados foram, para o dia 0, 30 e 60, respectivamente: PT (g/dL) 7,79 ± 0,17, 6,72
 273 ± 0,17, 6,82 ± 0,10; ALB (g/dL) 3,08 ± 0,03, 2,85 ± 0,05, 2,49 ± 0,09; Glob (g/dL) 4,64 ± 0,18,
 274 3,72 ± 0,14, 4,49 ± 0,14; relação ALB:Glob (g/dL) 0,68 ± 0,02, 0,77 ± 0,03, 0,59 ± 0,03; Crea
 275 (mg/dL) 1,34 ± 0,03, 1,61 ± 0,05, 1,24 ± 0,06; ureia (mg/dL) 25,3 ± 0,99, 24,4 ± 1,17, 18,85 ±
 276 1,23; COL (mg/dL) 109,08 ± 5,72, 108,75 ± 2,66, 88,25 ± 4,02 e TRI (mg/dL) 34,4 ± 1,01, 21,3 ±
 277 1,32, 25,95 ± 1,55. As maiores reduções do dia 0 para o dia 30 foram observadas para PT, Glob e
 278 TRI, e de 0 para 60 dias foram ALB, relação ALB:Glob, ureia, COL e TRI. Houve diferença
 279 estatística (p<0,05) em todos os parâmetros em pelo menos um dos tempos analisados. Conclui-se
 280 que a estabilidade de todos os constituintes sofreu alteração quando as amostras foram
 281 armazenadas sob congelamento, o que denota a importância do processamento imediato das
 282 amostras após a coleta.

283

284 Palavras-chave: bioquímica sérica, estabilidade, reativos, tempo de estocagem.

285

286

287 **REFERÊNCIAS**

288

289 COMIS, Miriam Bordinhão. Influência do tempo e temperatura sobre a estabilidade de
 290 constituintes do soro e plasma sanguíneos de equinos Mangalarga marchador. 2006. 111 f.
 291 Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade
 292 Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

293

294 COPPO, N. B.; COPPO, J.A.; LAZARTE, M. A. Intervalos de confianza para colesterol ligado a
 295 lipoproteínas de alta y baja densidad em suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. **Revista**
 296 **Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste**
 297 (UNNE), Argentina, v. 14, n. 1, p. 3-10. 2003. <http://dx.doi.org/10.30972/vet.141677>. Acesso em:
 298 10 set. 2019.

299

300 DIRAR, A. M.; ABDALLAH, D. A.; ABDELSALAM, K. E. A. Effect of storage time and
 301 temperature on some serum analytes. **International Journal of Pathology**; v. 8, n. 2, p. 68-71,
 302 2010. Disponível em: < [https://jpathology.com/effect-of-storage-time-and-temperature-on-some-](https://jpathology.com/effect-of-storage-time-and-temperature-on-some-serum-analytes/)
 303 [serum-analytes/](https://jpathology.com/effect-of-storage-time-and-temperature-on-some-serum-analytes/)>. Acesso em: 05 dez. 2019.

304

305 EHSANI, A.; AFSHARI, A.; BAHADORI, H.; MOHRI, M.; SEIFI, H. A. Serum constituents
 306 analyses in dairy cows: Effects of duration and temperature of the storage of clotted blood.
 307 **Research in Veterinary Science**, v. 85, n. 3, p. 473–475, 2008.
 308 <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.02.004>. Acesso em: 29 nov. 2019.

309

310 FERNANDES, S. T.; TEIXEIRA, M. N.; SANTOS, E. S. Influência da temperatura e do tempo
 311 de armazenamento nas dosagens bioquímicas de uréia e creatinina em soro ou plasma caninos.
 312 **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.648-651, 2001.
 313 <https://doi.org/10.1590/s0102-09352001000600004>. Acesso em: 10 set. 2019.

- 314
315 GIORGETTI, A.; LUPI, P.; MARTINI, A.; LAGORIO, O. Variability of results of metabolic
316 profile analysis. I. First findings [for cattle and sheep] of the influence of the plasma storage
317 method. **Obiettivi e Documenti Veterinari**, v. 10, n. 6, p. 49-51, 1989. Acesso em: 20 dez. 2019.
318
- 319 HENDRIX, Charles M. Procedimentos Laboratoriais para Técnicos Veterinários. 4. ed. São
320 Paulo: Roca, 2005. 576 p.
321
- 322 KOURI, T.; SILOAHO, M.; POHJAVAARA, S.; KOSKINEN, P.; MALMINIEMI, O.; POHJA-
323 NYLANDER, P.; PUUKKA, R. Pre-analytical factors and measurement uncertainty.
324 **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 65, p. 463-476, jun. 2005.
325 <https://doi.org/10.1080/00365510500208332> .Acesso em: 15 dez. 2019.
326
- 327 OLIVEIRA, A. F. X.; RAIMUNDO, J. M.; PIRES, M. S.; AMARO, G. M.; GUIMARÃES, A.;
328 SILVA, A. T.; BOTELHO, C. F. M.; MACHADO, C. H.; ALMEIDA, F. Q.; BALDANI, C. D.
329 Efeito do tempo e da temperatura de armazenamento na determinação de parâmetros bioquímicos
330 séricos e plasmáticos de equinos Quarto de Milha. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**,
331 Seropédica, v. 38(Supl.2), p. 11-16, nov. 2016. Disponível em:
332 <<http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/171>>. Acesso em: 26 dez. 2019.
333
- 334 OLIVEIRA, F. S.; FALBO, M. K.; SANDINI, I. E.; ISHIY, L. E. Efeito do congelamento e do
335 tempo de armazenamento do soro sanguíneo de cordeiros na determinação de parâmetros
336 bioquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2., p. 717-722. abr/jun. 2011.
337 <https://www.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n2p717>. Acesso em: 10 set. 2019.
338
- 339 PINELLI, G. S.; FRANCO R. P.; BARBOSA T. S. Efeito do congelamento e do tempo de
340 armazenamento do soro sanguíneo de cães na determinação de parâmetros bioquímicos. **Revista**
341 **Unimar Ciências**, Marília, v. 26, n. 1-2, p. 134-141, 2017. Disponível em:
342 <<http://ojs.unimar.br/index.php/ciencias/article/view/519>>. Acesso em: 30 abr. 2019.
343
- 344 RENDLE, D. I.; HELLER, J.; HUGHES, K. J.; INNOCENT, G. T.; DURHAM, A. E. Stability of
345 common biochemistry analytes in equine blood stored at room temperature. **Equine Veterinary**
346 **Journal**, v. 41, n. 5, p. 428-432, 2009. <https://www.doi.org/10.2746/042516409X370928>. Acesso
347 em: 12 set. 2019.
348
- 349 ROSATO, Paula Nunes. Estabilidade de constituintes bioquímicos frente a diferentes
350 temperaturas e períodos de estocagem, em amostras de soro de cães hípidos. 2007. 57 f.
351 Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e
352 Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007. Acesso em: 10 set. 2019.
353
- 354 THORENSEN, S. I.; TVERDAL, A.; HAVRE, G.; MORBERG, H. Effects of Storage Time and
355 Freezing Temperature on Clinical Chemical Parameters From Canine Serum and Heparinized
356 Plasma. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 24, n. 4, p. 129-133, 1995.
357 <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.1995.tb00954.x>. Acesso em: 10 set. 2019.
358
- 359 THRALL, Mary Anna; WEISER, Glade; ALLISON, Robin W.; CAMPBELL, Terry W.
360 Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
361 688 p.
362
363
364
365
366
367
368



Universidade Federal de Uberlândia

– Comissão de Ética na Utilização de Animais –



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Influência das faixas etárias, sexo, temperatura e tempo de armazenamento das amostras de sangue no perfil hematológico e bioquímico sérico de bovinos da raça bonsmara”. protocolo nº 053/18, sob a responsabilidade de **Fernando Cristino Barbosa** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião 17 de Agosto de 2018.

(We certify that the project entitled “Influência das faixas etárias, sexo, temperatura e tempo de armazenamento das amostras de sangue no perfil hematológico e bioquímico sérico de bovinos da raça bonsmara”, protocol 053/18, under the responsibility of - Fernando Cristino Barbosa involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of August 17th, 2018).

Vigência do Projeto	Início: 28/08/2018 Término: 28/06/2019
Espécie/Linhagem/Grupos Taxonômicos	Bovino
Número de animais	240
Peso/Idade	60 dias a 2 anos
Sexo	Machos/Fêmeas
Origem/Local	Fazenda Barra Grande, Uberlândia - MG
Local onde serão mantidos os animais:	Fazenda Barra Grande, Uberlândia - MG

Uberlândia, 24 de agosto de 2018

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão
Coordenador da CEUA/UFU

375
376

Bioscience Journal

377
378

Condições para submissão

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

- 382• Somente artigos escritos em inglês serão aceitos. A contribuição é original e inédita, e não está
383 sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em
384 "Comentários ao editor".
- 385• O arquivo da submissão está em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.
- 386• A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo (word) e da opção
387 Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista. O texto cumpre com
388 as normas de formatação da revista citados em “Diretrizes para os autores” na seção “Sobre”.
- 389• No momento da submissão on line, o autor principal deverá enviar um ofício assinado por todos
390 os autores, solicitando a submissão do artigo e a sua possível publicação, exclusivamente nesta
391 revista. O ofício deverá ser digitalizado e transferido para o sistema.
- 392• Todos os endereços "URL" no texto (ex.: <http://pkp.ubc.ca>) estão ativos.
- 393• O artigo está sendo submetido corretamente na seção correspondente, de acordo com a sua área.
- 394• Os manuscritos mesmo apresentando relevância científica e estando metodologicamente corretos
395 poderão ser recusados se apresentados de forma desorganizada e fora das normas da Bioscience
396 Journal. Manuscritos bem escritos e apresentados de acordo com as normas são revisados com
397 maior rapidez e, também, exigindo menor esforço dos revisores.
- 398• Será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos
399 trabalhos aprovados. (A forma de pagamento será informada posteriormente).
- 400• Todos os itens acima são requisitos básicos para a submissão de um artigo e, caso não estejam de
401 acordo com as normas da revista, ou os metadados não estejam preenchidos corretamente, o
402 referido artigo NÃO SERÁ considerado para avaliação.

403 Diretrizes para Autores

404

- 405 A redação deve primar pela clareza, brevidade e concisão. O texto deve ser digitado em fonte
406 Times New Roman, tamanho 11, espaço simples e com margem de, no mínimo, 2 cm. Todas as
407 linhas deverão ser numeradas. Os trabalhos deverão ser apresentados sem identificação de
408 autores. Os nomes dos autores, titulação e endereço de trabalho deverão ser apresentados nos
409 metadados da submissão e, na carta de encaminhamento. Figuras e tabelas deverão ser inseridas
410 no texto, o mais próximo possível de sua citação.
- 411 O artigo será encaminhado a três (03) revisores da área, no menor tempo possível, sem a
412 identificação dos autores e, será considerado aprovado com 02 pareceres favoráveis.
- 413 Serão aceitos somente trabalhos redigidos em inglês, com apresentação de certificado de revisão
414 feito por um expert na língua inglesa.
- 415 A revista se reserva o direito de efetuar alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical
416 nos originais, com vistas a manter o padrão culto da língua, respeitando, porém, o estilo dos
417 autores. As provas finais serão enviadas aos autores, juntamente com o boleto para pagamento da
418 publicação.
- 419 Os trabalhos publicados passarão a ser propriedade da revista Bioscience Journal, ficando sua
420 reimpressão, total ou parcial, sujeita a autorização expressa da direção da revista. Deve ser
421 consignada a fonte de publicação original.
- 422 Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis para impressão, no formato PDF,
423 no endereço eletrônico da revista.

424 Será cobrada taxa de publicação, no valor de R\$ 40,00 (quarenta reais) por página publicada, dos
425 trabalhos aprovados, para autores nacionais e \$ 40 (quarenta dólares) para autores estrangeiros.
426 (A forma de pagamento será informada posteriormente).
427 Após a avaliação e aprovação do artigo, a revista classificará as colaborações de acordo com as
428 seguintes categorias:

429 **1. Artigos originais** - Artigos que apresentem contribuição inteiramente nova ao conhecimento e
430 permitam que outros investigadores, baseados no texto escrito, possam julgar as conclusões,
431 verificar a exatidão das análises e deduções do autor e repetir a investigação se assim o
432 desejarem. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em Inglês,
433 Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão) e Conclusão
434 (opcional), Agradecimentos (se couber). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-
435 chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder a 20 páginas (incluindo
436 texto, referências, figuras e anexos).

437 **2. Artigos de Revisão** - Artigos que apresentem revisão ampla e atualizada de assunto de
438 interesse da comunidade científica e que ofereçam contribuição significativa para a área de
439 conhecimento abordada. Devem conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-
440 chave em inglês, Introdução, Desenvolvimento, Conclusão, Agradecimentos (se couber). Título,
441 Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos
442 não devem exceder a 30 páginas (incluindo texto, referências, figuras e eventuais anexos). Nesta
443 categoria de trabalho só serão aceitas para submissão contribuições feitas a convite dos editores
444 (Geral ou Associados).

445 **3. Comunicação** - Artigo não original, demonstrando a experiência de um grupo ou de um
446 serviço, abrangendo preferencialmente ensino, pesquisa, políticas de saúde e exercício
447 profissional. Ou ainda, que relate os resultados (parciais ou não) de trabalho que ofereça
448 informações relevantes para o conhecimento científico, mas não permitam conclusões robustas.
449 Deve conter: Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e Palavras-chave em inglês, Introdução,
450 Conteúdo, Agradecimentos (caso necessário). Título, Resumo (com 200 a 400 palavras) e
451 Palavras-chaves em português e Referências. Os trabalhos não devem exceder 10 páginas,
452 incluídos os anexos.

453 **Apresentação dos Trabalhos**

454 **Formato:** Todas as colaborações devem ser enviadas por meio do Sistema Eletrônico de
455 Editoração de Revista - SEER,
456 endereço: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/submission/wizard>
457 O texto deve estar gravado em extensão RTF (Rich Text Format) ou em formato Microsoft Word
458 (2010). Os metadados deverão ser obrigatoriamente preenchidos com o título do trabalho,
459 nome(s) do(s) autor(es), último grau acadêmico, instituição que trabalha, endereço postal,
460 telefone, fax e e-mail.
461 O texto será escrito cordialmente, com intercalação de tabelas e figuras, já inseridas no texto, em
462 quantidade mínima necessária para a sua compreensão.

463 No corpo do trabalho não deverá constar os nomes dos autores, que deverão ser encaminhados
464 separadamente, com dados pessoais (títulos, endereço para correspondência, e-mail e Instituição a
465 que está ligado), como medida de sigilo.

466 **Título do trabalho:** O título deve ser breve e suficientemente específico e descritivo, contendo as
467 palavras-chave que representem o conteúdo do texto separadas por ponto, ambos acompanhados
468 de sua tradução para o português.

469 **Resumo:** Deve ser elaborado um resumo informativo com cerca de 200 a 400 palavras, incluindo
470 objetivo, método, resultado, conclusão, acompanhado de sua tradução para o português. Ambos
471 devem ter, no máximo, 800 palavras.

472 **Palavras-chave:** As palavras-chave e keywords não devem repetir palavras do título, devendo-se
473 incluir o nome científico das espécies estudadas. As palavras devem ser separadas por ponto e
474 iniciadas com letra maiúscula. Os autores devem apresentar de 3 a 6 termos, considerando que um
475 termo pode ser composto de duas ou mais palavras.

476 **Agradecimentos:** Agradecimentos a auxílios recebidos para a elaboração do trabalho deverão ser
477 mencionados no final do artigo, antes das referências.

478 **Notas:** Notas contidas no artigo devem ser indicadas com um asterisco imediatamente depois da
479 frase a que diz respeito. As notas deverão vir no rodapé da página correspondente.
480 Excepcionalmente poderão ser adotados números para as notas junto com asteriscos em uma
481 mesma página, e nesse caso as notas com asteriscos antecedem as notas com número, não
482 importando a ordem dessas notas no texto. Apêndices: Apêndices podem ser empregados no caso
483 de listagens extensivas, estatísticas e outros elementos de suporte.

484 **Figuras e tabelas:** Fotografias nítidas (preto e branco ou em cores), gráficos e tabelas em preto e
485 branco (estritamente indispensáveis a clareza do texto) serão aceitos, e deverão ser assinalados,
486 no texto, pelo seu número de ordem, nos locais onde devem ser intercalados. Se as ilustrações
487 enviadas já tiverem sido publicadas, mencionar a fonte. (vide normas para elaboração de figuras,
488 na próxima seção).
489 Os manuscritos, ainda que apresentem relevância científica e estejam metodologicamente
490 corretos, poderão ser recusados se não apresentarem a devida organização e se estiverem fora das
491 normas da Bioscience Journal.

492 **NORMAS PARA ELABORAÇÃO DE FIGURAS**

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

495 2. As figuras deverão ter largura máxima de 8,0 cm ou 16,0 cm.

496 3. Os títulos e a escala dos eixos x e y deverão ser em Times New Roman tamanho 11. As linhas
497 dos eixos e demais linhas (e.g., curvas de regressão) deverão ter espessura de 0,3 mm. Todas as
498 informações contidas no interior da figura (e.g., equações, legendas) deverão ser em Times New
499 Roman tamanho 10 ou no mínimo 8. São dispensáveis as bordas, direita e superior, em gráficos.

500 4. Todas as figuras deverão ser inseridas convenientemente no texto logo após a sua chamada,
501 consecutivamente e em números arábicos. As figuras deverão ser inseridas no texto por meio do
502 comando Inserir Imagem/Figura Arquivo.

503 5. As figuras podem ser constituídas por múltiplos gráficos, tanto na horizontal como na vertical,
504 respeitando a largura máxima de 16,0 cm e 8,0 cm, respectivamente. Quando se tratar de figuras
505 com vários gráficos, os mesmos deverão ser identificados por letras (A, B, C, D) em maiúsculo
506 entre parênteses, fonte Times New Roman tamanho 11. Trabalhos que tenham sido consultados e
507 mencionados no texto são da responsabilidade do autor.

508 Informação oriunda de comunicação pessoal, trabalhos em andamento e os não-publicados não
509 devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em nota de rodapé da página em que
510 forem citados.

511 **Referências: ISO 690:2010(E) - *Information and Documentation – Guidelines for***
 512 ***bibliographic references and citations to information resources. 3rd ed. 2010.*** A exatidão e
 513 adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto são
 514 da responsabilidade do autor. Informação oriunda de comunicação pessoal, trabalhos em
 515 andamento e os não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas indicados em
 516 nota de rodapé da página onde forem citados.

517 As referências incluídas no final de cada artigo devem ser escritas em páginas separadas do texto
 518 principal, em ordem alfabética de acordo com as normas da **ISO 690:2010(E)**.

519 **Observar os exemplos das referências abaixo:**

520 **Livros (termo técnico: monografias)**

521 SOBRENOME, Nomes. *Título*. Responsabilidade secundária. Edição. Local de publicação:
 522 Editor, Ano de publicação. ISBN.

523 Até 3 autores:

524 BERTONI, J. e LOMBARDI NETO, F. *Conservação do solo*. 7ª ed. São Paulo: Ícone, 2010.
 525 ISBN 85-274-0143-6.

526

527 Mais de 3 autores:

528 DONAGEMMA, G. K., et al. *Manual de métodos de análise de solos*. 2ª ed. Rio de Janeiro:
 529 Embrapa Solos, 2011. ISBN 85-85864-03-6.

530 **Volumes e partes de livros**

531 SOBRENOME, Nomes. *Título da parte*. Edição. Numeração. Responsabilidade secundária. Local
 532 de publicação : Editor, Ano de publicação. Localização da parte.

533 Exemplo:

534 HINKELMANN, Klaus. *Design and analysis of experiments*, 2th ed. Vol. 1. Hoboken: Wiley-
 535 Interscience, c2008. Section 4, Linear Model Theory, p. 73-140.

536 **Capítulos em livros**

537 SOBRENOME, Nomes. *Título da contribuição*. In SOBRENOME, Nomes. *Título da monografia*.
 538 Edição. Local de publicação : Editor, Ano de publicação, Localização na monografia.

539 Exemplo:

540 HARRIS, Robin F. and KARLEN, Douglas L. and MULLA, David J. A conceptual framework
 541 for assessment and management of soil quality and health. In: DORAN, J. W. and JONES, A. J.
 542 (Ed.). *Methods for assessing soil quality*. Madison: Soil Science Society of America, 1996, pp.
 543 61-82.

544 **Artigos de revistas, jornais, etc.**

545 SOBRENOME, Nomes. *Título do artigo*. Responsabilidade secundária. *Título da publicação em*
 546 *série*. Edição. Ano de publicação, Numeração, Localização na publicação. ISSN.

547 Exemplo:

548 GEHRING, C. A. Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with

549 light intensity and tree species. *Plant Ecology*. July 2003, vol. 167, nº 1, pp. 127-139. ISSN 1385-
 550 0237.
 551 ou
 552 GEHRING, C. A. Growth responses to arbuscular mycorrhizae by rain forest seedlings vary with
 553 light intensity and tree species. *Plant Ecology*. 2003, 167 (1), 127-139. ISSN 1385-0237.

554 **Teses, dissertações e outras provas acadêmicas**

555 SOBRENOME, Nomes. *Título*. Nota suplementar, Instituição Acadêmica, Ano.

556 Exemplo:

557 FERNANDES, J. C. *Fontes e doses de nitrogênio na adubação do capim-Mombaça em cerrado*
 558 *de baixa altitude*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2011. Dissertação de Mestrado.

559 **Comunicações em congresso**

560 SOBRENOME, Nomes. Título da comunicação. In *Título das actas do congresso, número, local,*
 561 *data*. Local de publicação: Editor. Localização na publicação. ISBN.

562 Exemplo:

563 MILLARD, Frédérique e TOUPANCE, Gérard. Indicators concept applied to a european city: the
 564 ile de france area during ESQUIF Campaign. In: *Conference on air pollution modelling and*
 565 *simulation*, 2, Champs-sur-Marne, France, 2001. Berlin : Springer, c2002. ISBN 978-3-642-
 566 07637-4.

567 **Normas**

568 Sigla e Número da Norma : Ano. Área - Título. Edição. Ano de publicação

569 Exemplo:

570 ISO 690:2010(E). *Information and Documentation – Guidelines for bibliographic references and*
 571 *citations to information resources*. 3rd ed. 2010.

572 **Patentes**

573 ENTIDADE RESPONSÁVEL. *Título*. Responsabilidade secundária. País Tipo de documento
 574 Número. Data de publicação

575 **Exemplo:**

576 SUN CHEMICAL CORP. *Binder for fibers or fabrics*. LINDEMANN, Martin K. and DEACON,
 577 Kim.US Patent 4 683 165. 1987-07-28.

578 Documentos eletrônicos

579 **Livro (e-books)**

580 SOBRENOME, Nomes. *Título*. [Tipo de suporte]. Responsabilidade secundária. Edição. Local de
 581 publicação: Editor, Ano de publicação. Data de atualização/revisão. [Data de consulta].
 582 Disponibilidade e acesso. ISBN.

583 **Exemplo:**

584 PINTO, Luísa Janaina Lopes Barroso. *Inovação e regulamentação ambiental no setor de*
 585 *alimentos sob a égide evolucionária* [Online]. Ponta Grossa: Atena, 2019 [consultado 24 Janeiro
 586 de 2020]. Disponível em: [https://www.atenaeditora.com.br/arquivos/ebooks/inovacao-e-](https://www.atenaeditora.com.br/arquivos/ebooks/inovacao-e-regulamentacao-ambiental-no-setor-de-alimentos-sob-a-egide-evolucionaria)
 587 [regulamentacao-ambiental-no-setor-de-alimentos-sob-a-egide-evolucionaria](https://www.atenaeditora.com.br/arquivos/ebooks/inovacao-e-regulamentacao-ambiental-no-setor-de-alimentos-sob-a-egide-evolucionaria). ISBN 978-85-7247-
 588 820-5.

589 **Capítulo de livro (e-books)**

590 SOBRENOME, Nomes. Título da contribuição. In *Título da monografia* [Tipo de suporte].
 591 Responsabilidade Secundária. Edição. Local de publicação: Editor, Ano de publicação. Data de
 592 atualização/revisão [Data de consulta]. Localização na monografia. Disponibilidade e acesso.

593 **Exemplo:**

594 ALMEIDA, Suise Carolina Carmelo de e GONÇALVES, Luciana Márcia. Indicadores de
 595 sustentabilidade urbana: panorama das principais ferramentas utilizadas para gestão do
 596 desenvolvimento sustentável. In: PACHECO, Juliana Thaisa Rodrigues e KAWANISHI, Juliana
 597 Yuri e NASCIMENTO, Rafaelly do (org.). *Meio ambiente e desenvolvimento*
 598 *sustentável* [online]. Ponta Grossa: Atena, 2019 [consultado em 25 Janeiro 2020]. pp. 113-126.
 599 Disponível em: [https://www.atenaeditora.com.br/arquivos/ebooks/meio-ambiente-e-](https://www.atenaeditora.com.br/arquivos/ebooks/meio-ambiente-e-desenvolvimento-sustentavel-2)
 600 [desenvolvimento-sustentavel-2](https://www.atenaeditora.com.br/arquivos/ebooks/meio-ambiente-e-desenvolvimento-sustentavel-2). ISBN 978-85-72477-54-3.

601 **Periódicos online**

602 *Título*. [tipo de suporte]. Edição. Local de publicação: Editora, Data de publicação [data de
 603 citação]. Série. Nota. Disponibilidade e Acesso. ISSN.

604 **Exemplo:**

605 *Journal of Technology Education*. [online]. Blacksburg (Va): Virginia Polytechnic Institute and
 606 State University, 1989- [cited 15 March 1995]. Semi-annual. Disponível
 607 em: <https://scholar.lib.vt.edu/ejournals/JTE/>. ISSN 1045-1064.

608 **Artigos em documentos eletrônicos: revistas, jornais, etc.**

609 SOBRENOME, Nomes. Título do artigo. Título da publicação [Tipo de suporte]. Edição.
 610 Numeração. Data de atualização/revisão [Data de consulta], Localização na publicação.
 611 Disponibilidade e acesso. ISSN.

612 **Exemplo em português:**

613 ALVAREZ-PARDO, V. M. e FERREIRA, A. G. e NUNES, V. F. Seed desinfestation methods
 614 for in vitro cultivation of epiphyte orchids from Southern Brazil. *Horticultura Brasileira* [online],
 615 junho 2006, vol. 24, nº 2, pp. 217-220 [consultado em 2020-01-24]. Disponível
 616 em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000200019>. ISSN 1806-9991.

617 ou

618 ALVAREZ-PARDO, V. M. e FERREIRA, A. G. e NUNES, V. F. Seed desinfestation methods
 619 for in vitro cultivation of epiphyte orchids from Southern Brazil. *Horticultura Brasileira* [online],
 620 junho 2006, 24 (2), 217-220 [consultado em 2020-01-24]. Disponível
 621 em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000200019>. ISSN 1806-9991.

622 **Exemplo em inglês:**

623 DUTRA, D. e KANE, M. e RICHARDSON, L. Asymbiotic seed germination and in vitro
 624 seedling development of *cyrtopodium punctatum* : a propagation protocol for an endangered
 625 Florida native orchid. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* [online]. March 2009, vol. 96, nº 3

626 [cited 2004-01-24], pp. 235-243. Available from Internet: [http://dx.doi.org/10.1007/s11240-008-](http://dx.doi.org/10.1007/s11240-008-9480-z)
627 9480-z. ISSN 1573-5044.

628 **Transferência de Direitos Autorais:**

629 Todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar a Transferência de Direitos Autorais:

630 Declaro que, em caso de aceitação do artigo, a Bioscience Journal passa a ter os direitos autorais a
631 ele referentes, que se tornarão propriedade exclusiva da Revista, vedado a qualquer reprodução,
632 total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação, impressa ou eletrônica, sem que
633 a prévia e necessária autorização seja solicitada e, se obtida, farei constar o competente
634 agradecimento À Revista.

635 Assinaturas do(s) autor(es) Data ___/___/____

636 As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

637 **Declaração de Responsabilidade:**

638 Todas as pessoas relacionadas como autores devem assinar a declaração de responsabilidade nos
639 termos abaixo:

640 - Certifico que participei da concepção do trabalho para tornar pública minha responsabilidade
641 pelo seu conteúdo, não omitindo quaisquer ligações ou acordos de financiamento entre os autores
642 e companhias que possam ter interesse na publicação deste artigo;

643 - Certifico que o manuscrito é original e que o trabalho, em parte ou na íntegra, ou qualquer outro
644 trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, não foi enviado a outra
645 Revista e não o será, enquanto sua publicação estiver sendo considerada pela Bioscience Journal,
646 quer seja no formato impresso ou no eletrônico.

647 **Endereço para envio de trabalhos:**

648 <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/submission/wizard>

649 **Declaração de Direito Autoral**

650 Os direitos autorais para artigos publicados nesta revista são do autor, com direitos de primeira
651 publicação para a revista. Em virtude de aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos
652 são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

653 **Política de Privacidade**

654 Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços
655 prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.