

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n03a1075.1-6>

## Identificação e diferenciação morfológica de microfírias no sangue de cães do Espírito Santo

Stéfani Cosme Peroba<sup>1</sup> , Natânia do Carmo Sperandio<sup>2</sup> , Isabella Vilhena Freire Martins<sup>3\*</sup> 

<sup>1</sup>Estudante de graduação do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil.

<sup>2</sup>Estudante do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil

<sup>3</sup>Professora e Pesquisadora do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil.

\*Autor para correspondência, E-mail: [isabella.martins@ufes.br](mailto:isabella.martins@ufes.br)

**Resumo.** As filaríoses são helmintoses comuns em cães domésticos, podendo também ocorrer em gatos, cavalos e alguns animais selvagens. As espécies envolvidas com o parasitismo levam o hospedeiro a um quadro de microfíremia, com produção de microfírias que são muito semelhantes entre si, dificultando o diagnóstico. O objetivo deste trabalho foi esclarecer as diferenças morfológicas entre as microfírias dos principais filarídeos de cães, em especial *Dirofilaria immitis* e *Acanthocheilonema reconditum*. Para este estudo, amostras sanguíneas de cães do Espírito Santo foram recolhidas por laboratórios veterinários, diagnosticadas previamente como positivas por meio do esfregaço sanguíneo e encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo. As amostras foram submetidas ao teste de Knott modificado e avaliadas em lâmina sob microscópio óptico para caracterização morfométrica, com base nas características morfológicas da cabeça e cauda e posterior diferenciação das espécies de microfírias encontradas. Setenta e duas amostras foram avaliadas, sendo que 69,44% representaram infecção por *D. immitis* e 15,27% por *A. reconditum*, sendo que, destas, 12,5% equivaleram à infecção simultânea entre as duas espécies. Não foram encontradas evidências que sugerissem outras espécies de filarídeos.

**Palavras-chave:** *Acanthocheilonema reconditum*, *Dirofilaria immitis*, knott, morphometry

## Identification and morphological differentiation of microfilariae in dog blood no Espírito Santo

**Abstract.** The filariasis are helminths that are common in domestic dogs but may also occur in cats, horses and some wild animals. The species involved with the parasitism bring the host to a case of microfíremia, producing microfilariae that are very similar to each other, which makes the diagnosis difficult. This work aimed to clarify the morphologic differences between the microfilariae of the main filarial worms in dogs, specially *Dirofilaria immitis* e *Acanthocheilonema reconditum*. For the study, blood samples of dogs in Espírito Santo were collected by veterinarian laboratories previously diagnosed as positive using blood smear, and forwarded to the Parasitology Lab of the Veterinary Hospital of the Federal University of Espírito Santo. The samples were submitted to modified Knott test and analyzed on slide under optical microscope for morphometric characterization, based on its main morphological characteristics from head and tail and subsequent differentiation of the microfilaria species found. Seventy-two samples were analyzed, being 69.44% represented infection by *D. immitis* and 15.27% by *A. reconditum*, from which 12.5% were infected by both species. There was no evidence that would suggest other species of filarial worms.

**Keywords:** *Acanthocheilonema reconditum*, *Dirofilaria immitis*, knott, morphometry

## Introdução

As filaríoses são importantes doenças que acometem cães domésticos e ocorrem simultaneamente em diferentes regiões por todos os continentes do mundo, incluindo o Brasil ([Labarthe et al., 2014](#)). Além de sua importância nos animais de companhia, ocorrências de casos em humanos já foram descritas na literatura, sendo por isso consideradas zoonoses emergentes. A transmissão destas enfermidades para os animais e humanos se dá por meio de vetores hematófagos como mosquitos, pulgas, carrapatos e piolhos ([López et al., 2012](#)).

As principais espécies envolvidas neste parasitismo são os nematoides *Acanthocheilonema reconditum*, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* além de outros filarídeos de ocorrência menos comum. Levando em consideração que as microfilárias produzidas por estes agentes possuem grande semelhança entre si, diferenciá-las é uma tarefa que merece atenção, uma vez que *D. immitis* pode levar o hospedeiro a graves complicações, incluindo o óbito e casos de *A. reconditum* e demais filarídeos são considerados levemente patogênicos ([Genchi et al., 2007](#); [Nelson et al., 2020](#); [Patton & Faulkner, 1992](#); [Romero-Rodríguez et al., 2019](#)).

Na rotina laboratorial, a principal forma de diagnosticar a presença de microfilárias é a avaliação do sangue por esfregaço sanguíneo, porém por esta técnica não é possível diferenciar as microfilárias ([Larsson, 1990](#)). Para melhor obtenção de resultados, a técnica mais utilizada para a avaliação morfológica é o teste de Knott modificado, mas além deste, outros exames podem ser utilizados para o diagnóstico em geral, como gota espessa, testes imunológicos e a técnica de Woo (micro capilar). Segundo Magnis et al. ([2013](#)) os dados morfométricos na literatura variam consideravelmente, mas a técnica de Knott modificada é um método confiável e barato de diferenciar os gêneros *Dirofilaria* e *Acanthocheilonema*.

O objetivo deste estudo foi identificar microfilárias em amostras sanguíneas de cães provenientes do Espírito Santo e diferenciá-las por meio de suas características morfológicas.

## Material e métodos

Para a realização deste estudo, foram selecionados três laboratórios veterinários do Espírito Santo, sendo localizados na cidade de Vitória, São Mateus e Alegre, CDV – Centro de Diagnóstico Veterinário, Consultório Veterinário Bicho Solto e Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), respectivamente.

Para a realização do estudo os proprietários dos estabelecimentos parceiros concordaram com toda a metodologia empregada e a pesquisa também contou com a autorização da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA-UFES) sob o número 034/2019.

As amostras foram coletadas em clínicas e petshops veterinários e enviadas para os laboratórios de cada região em tubo com EDTA e analisadas conforme a rotina de cada um. Após análise por esfregaço sanguíneo e identificação da presença de microfilárias, 1 mL de sangue da respectiva amostra positiva foi adicionado a 9 mL de formalina a 2% (1:10) em outro tubo e homogeneizado, promovendo hemólise. A nova mistura passou por devida identificação com nome do paciente e da clínica onde o sangue foi coletado, e armazenada em temperatura ambiente.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia, localizado no Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da UFES (HOVET-CCAUE-UFES). Cada amostra coletada foi enviada juntamente com informações detalhadas como nome do animal, nome da clínica onde o sangue foi coletado, bairro e cidade onde se localiza.

No Laboratório de Parasitologia do HOVET-CCAUE-UFES a mistura do sangue com formalina foi submetida à técnica de Knott modificada, de acordo com Newton & Wright ([1956](#)). As amostras foram agitadas e passaram por centrifugação em 2000rpm por 5 minutos. Em seguida foi descartado o sobrenadante, uma gota de corante Azul de Metileno 0,2% foi adicionada ao sedimento e uma gota da amostra corada foi colocada em lâmina com o auxílio de pipeta tipo *Pasteur*, coberta com lamínula e levada para observação em microscópio óptico.

A primeira etapa da análise realizada ao microscópio foi contabilizar as microfilárias presentes na amostra em lâmina, avaliando o quadro de microfilaremia em que o animal se encontrava.

Das microfilárias encontradas na lâmina, 10 foram submetidas a análise morfométrica de comprimento e diâmetro e fotografadas com auxílio da câmera DinoCapture 2.0, a qual foi calibrada para medição em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) no início da pesquisa. Utilizou-se microscópio óptico Olympus, modelo CX41RF nos aumentos de 100 e 400x para identificação das características morfológicas e diferenciação das possíveis espécies e em 1000x para observar em detalhes as estruturas em cabeça e cauda. O diâmetro foi mensurado na porção medial das microfilárias, região mais uniforme de seu corpo, sem influência do afilamento das extremidades.

A identificação da espécie por meio das características morfológicas e da mensuração de comprimento e diâmetro foi baseada em valores já citados na literatura ([Genchi et al., 2007](#); [Soulsby, 1988](#)).

A análise das amostras foi feita de forma descritiva, utilizando-se média e amplitude dos tamanhos de microfilárias encontradas em cada lâmina. As mensurações foram feitas pelo mesmo observador e mesmo equipamento durante todo o estudo, sendo os valores anotados e compilados em planilha do Microsoft Excel®.

## Resultados e discussão

No presente estudo, 72 amostras de sangue foram analisadas, das quais 50 foram encaminhadas de clínicas da Grande Vitória e 22 amostras de São Mateus e região. A cidade do sul do estado, Alegre, também fazia parte da pesquisa, porém devido a Pandemia ocasionada pela Covid-19 o Hospital Veterinário da UFES cessou os atendimentos e suspendeu o seu funcionamento no ano de 2020, não contribuindo com dados para este estudo. Antes do início da pandemia, quando a pesquisa se iniciou, nenhuma coleta de sangue positiva para microfilárias foi realizada, por conta disso não é possível afirmar que não há presença de casos da doença na localidade.

Os resultados das amostras analisadas neste estudo foram dispostos na [tabela 1](#). Foram apresentadas informações de microfilaremia, comprimento e diâmetro médios e a amplitude entre as 10 observadas em cada lâmina.

**Tabela 1.** Descrição morfológica média das microfilárias encontradas nas amostras de sangue de cães provenientes de São Mateus e Grande Vitória, ES.

Local da coleta	Nº amostras	Microfilaremia média	Amplitude microfilarêmica	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )		Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )	
				Média	Amplitude	Média	Amplitude
São Mateus e região	22	216,76	2 a 2040	279,18	228,88 - 306,24	5,51	3,89 - 6,52
Grande Vitória	50	156,11	1 a 1028	262,01	216,85 - 310,38	5,35	3,89 - 7,09

\*Valores médios encontrados em 10 microfilárias analisadas por amostra

O número total de microfilárias em cada amostra sanguínea variou significativamente, mostrando que os animais apresentavam quadros microfilarêmicos mais graves ou mais brandos. Essa é uma característica interessante a respeito da técnica utilizada, que por ser quantitativa, permite contabilizar os exemplares, enquanto os exames de rotina de esfregaço sanguíneo dos laboratórios não fornecem essa informação. Além disso, a sensibilidade do esfregaço para detecção de microfilárias na amostra sanguínea é inferior ao teste de Knott modificado, sendo muito baixa quando se encontram 10 ou menos microfilárias por mililitro de sangue. Por conta disso, é possível que alguns casos positivos passem pelos laboratórios sem diagnóstico se a microfilaremia for baixa. Segundo Courtney & Zeng ([2001](#)), a sensibilidade do esfregaço direto aumenta conforme aumenta a microfilaremia.

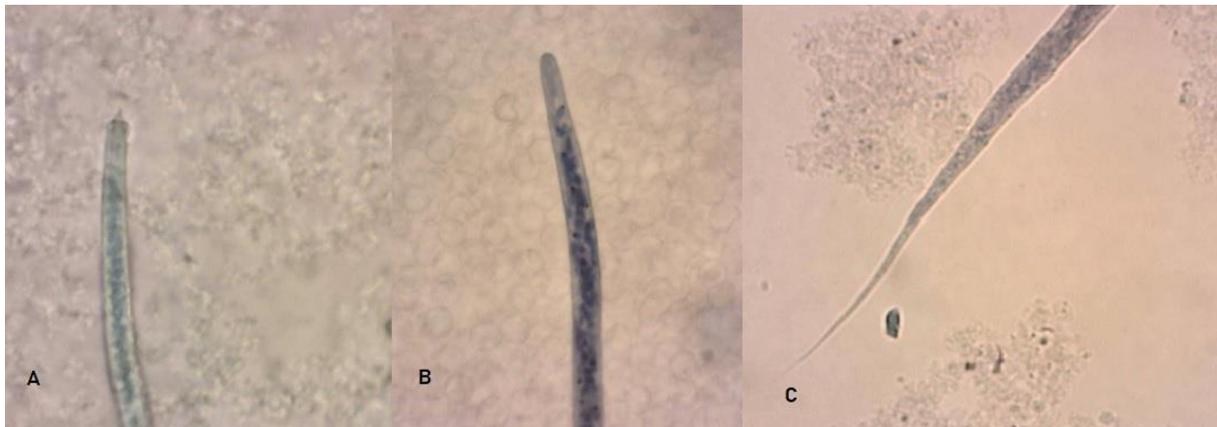
Das 72 amostras analisadas, quatro (5,55%) apresentaram-se negativas ao final do teste de Knott, mesmo que tenham sido previamente consideradas positivas pelo laboratório. De acordo com o teste de Knott modificado, o sangue precisa ser adicionado a formalina 2% na proporção de 1:10 para fixação da microfilária e isso não altera as características morfológicas dos exemplares; porém, o processo de fixação e conservação pode ter sido falho em determinadas amostras, que se apresentaram muito gelatinosas e grumosas, o que dificultava a boa visualização dos exemplares e sua mensuração de cada microfilária, podendo ter influenciado também na negatividade observada.

Em amostras muito grumosas, as microfilárias encontravam-se aderidas aos sedimentos e celularidades sanguíneas. Tal fator pode estar relacionado a diluição inadequada ou hemólise insuficiente. Faz-se necessário para a diferenciação morfológica que a amostra esteja fluida, sem sedimentos e com boa observação das microfilárias. Além disso, como a análise foi realizada com uma gota de sangue entre lâmina e lamínula, a força mecânica gerada sobre as estruturas pode ter interferido nas suas características morfológicas, por exemplo, caudas com curvatura e dobras pelo corpo. Esses acontecimentos, associados à excessiva celularidade em alguns casos, impossibilitaram definir a espécie, tornando a amostra inconclusiva, o que aconteceu em 19,4% dos casos. Na literatura pesquisada não houve citação de um acontecimento semelhante a este.

Durante a avaliação morfológica das microfilárias, observou-se uma discordância quanto às mensurações de comprimento das espécies estudadas, menores que as já citadas na literatura. De acordo com Soulsby (1988), microfilárias de *D. immitis* medem de 307  $\mu\text{m}$  a 322  $\mu\text{m}$  de comprimento e *A. reconditum* 246  $\mu\text{m}$  a 293  $\mu\text{m}$ . Já Genchi et al. (2007) citam *D. immitis* e *A. reconditum* com 290-330  $\mu\text{m}$  de comprimento, 5-7  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 260-283  $\mu\text{m}$  de comprimento e 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro respectivamente. Magnis et al. (2013) relataram médias de 302 e 265  $\mu\text{m}$  de comprimento nas microfilárias de *D. immitis* e *A. reconditum*, respectivamente e confirmam que a literatura é divergente em relação as mensurações. Os autores ainda citam que para identificação de espécies dentro do gênero *Acanthocheilonema* faz-se necessário o uso de técnicas de diagnóstico histoquímico ou molecular para confirmar as espécies encontradas.

Quanto à morfologia de formato da cabeça e cauda, as amostras analisadas apresentaram cabeça em formato oval e cauda retilínea, em ambos os locais estudados, indicando parasitismo por *D. immitis*, porém exemplares com cauda em gancho e gancho cefálico também foram observados. Das amostras avaliadas, 11 (15,27%) foram positivas para *A. reconditum*, sendo que nove (12,5%) pertenciam a quadros de coinfeção, mostrando que o parasitismo simultâneo entre *A. reconditum* e *D. immitis* pode ocorrer.

A presença do gancho cefálico (Figura 1A) é uma característica que pode não ser observada em todas as situações (Sawyer et al., 1965), como ocorreu nas lâminas positivas para *A. reconditum* observadas neste estudo. Por conta disso, é possível que o número de casos desta espécie seja subestimado.



**Figura 1.** A- Microfilárias de *A. reconditum* apresentando gancho cefálico. B- Extremidade anterior ovalada de microfilária de *D. immitis*. C- Extremidade posterior evidenciando cauda retilínea de *D. immitis*. Aumento de 400x.

Infecções provocadas por *D. immitis* foram confirmadas através da morfologia e tamanho das microfilárias, e representaram 69,44% dos casos positivos. A cauda terminando em formato retilíneo e a cabeça oval (Figura 1 B e C), além do tamanho e diâmetro já mostrados, foram as características utilizadas para sua identificação.

A análise dos dados obtidos neste estudo, comparados com outros trabalhos já citados na literatura, pode comprovar que a ocorrência das espécies e a porcentagem encontrada varia grandemente de acordo com a região onde a pesquisa é realizada. No presente estudo foi observada uma maior ocorrência de *D. immitis*, o mesmo encontrado em outros trabalhos na região Sudeste, como o realizado por Larsson (1990), em São Paulo, em que de 511 amostras, 80 foram positivas e destas, 15,65% pertenciam a *D.*

*immitis* e 6,45% a *Acanthocheilonema* sp. Lira et al. (2016), em um estudo com 137 amostras de sangue em Santa Catarina, não diagnosticaram nenhuma com *D. immitis*. Esse achado pode indicar que a ocorrência da Dirofilariose na região Sudeste seja maior, quando comparado com o Sul do país.

Os valores de *A. reconditum* encontrados neste estudo seguiram o mesmo padrão observado por Larsson (1990), ou seja, uma menor porcentagem comparada a *D. immitis*. No Espírito Santo, apenas um trabalho relata a ocorrência de *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* em cães de Vitória (Kasai et al., 1981), o que dificulta a comparação dos resultados com os obtidos no presente trabalho.

As microfilárias de *D. immitis* e *D. repens* apresentam características morfológicas muito semelhantes segundo a literatura (Soulsby, 1988). Entretanto, os locais mais comuns de ocorrência de *D. repens* são Europa, Ásia e África, com poucos relatos no Brasil, o que sugere que as microfilárias encontradas no sangue dos cães deste estudo pertençam à espécie *D. immitis*, uma vez que a literatura recomenda diferenciar o aparecimento das espécies em áreas de co-endemicidade (Gioia et al., 2010). A mesma situação ocorre com *A. dracunculoides*, que seu tamanho poderia sugerir infecção de algumas amostras deste trabalho, porém não foram encontrados relatos na literatura desta infecção no Brasil, levando a crer que todas as microfilárias identificadas pertencessem às espécies *D. immitis* e *A. reconditum*.

A infecção por dirofilariose é descrita como mais prevalente em regiões costeiras tropicais e subtropicais. Porém, devido às sucessivas mudanças climáticas que vêm ocorrendo, ela já foi detectada em locais anteriormente considerados livres da doença (Santos Filho et al., 2021). No presente estudo, as cidades onde as amostras foram coletadas localizavam-se no litoral ou em regiões próximas, mas é importante que novos estudos sejam realizados também em regiões não litorâneas do Espírito Santo para mostrar se há ou não a ocorrência da doença, uma vez que existem poucos estudos no estado a respeito do assunto, pois se sabe que para a transmissão ocorrer é necessária apenas a presença de cães microfilarêmicos, de mosquitos vetores competentes e de cães susceptíveis (Labarthe et al., 2015).

A realização de estudos com microfilárias é muito importante para confirmar quais espécies ocorrem no estado do Espírito Santo. A visualização de uma microfilária no exame de rotina não define que o animal possui dirofilariose, uma vez que foi confirmada a presença de outras espécies no sangue destes animais. Todavia, por ser uma doença grave e comum, isso torna ainda mais relevante a utilização dos testes rápidos para a confirmação da infecção por *D. immitis*. Além disso, estudos mais aprofundados precisam ser realizados no estado, abrangendo mais localidades para confirmar que a doença pode sim ocorrer em regiões não litorâneas e enfatizar a importância de um diagnóstico eficaz.

Os resultados obtidos neste estudo permitiram comprovar que é possível diferenciar morfológicamente as espécies através da técnica utilizada e que a ocorrência do parasitismo de *A. reconditum* e *D. immitis* está presente no estado no Espírito Santo, levando em conta que também podem existir quadros de coinfeções. Os exemplares observados nas amostras do estudo não permitiram confirmação de outras espécies de filarídeos além das diagnosticadas.

### Referências bibliográficas

- Courtney, C. H., & Zeng, Q.-Y. (2001). Relationship between microfilaria count and sensitivity of the direct smear for diagnosis of canine dirofilariosis. *Veterinary Parasitology*, 94(3), 199–204. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00377-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00377-0).
- Genchi, C., Venco, L., & Genchi, M. (2007). Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. In *Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline Dirofilaria infections* (Vol. 8, pp. 137–144). *Veterinary Parasitology and Parasitic Diseases*.
- Gioia, G., Lecová, L., Genchi, M., Ferri, E., Genchi, C., & Mortarino, M. (2010). Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in canine peripheral blood. *Veterinary Parasitology*, 172(1–2), 160–163. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.027>.
- Kasai, N., Mattos, E. A., & Costa, J. O. (1981). *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in dogs from Vitoria, Espírito Santo, Brazil. *Arquivos Da Escola de Veterinária Da Universidade Federal de Minas Gerais*, 33(3), 425–429. <https://doi.org/>.

- Labarthe, N. V., Paiva, J. P., Reifur, L., Mendes-de-Almeida, F., Merlo, A., Pinto, C. J. C., Juliani, P. S., Almeida, M. A. O., & Alves, L. C. (2014). Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0493-7>.
- Labarthe, N. V., Willi, L. M. V., Paiva, J. P., Miranda, M. G. N., Zoreck, K., & Almeida, F. M. (2015). Chemoprophylaxis of *Dirofilaria immitis* (Leidy 1856) infection at a high challenge environment. *Parasites & Vectors*, 8(1), 1–4. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1141-6>.
- Larsson, M. H. M. A. (1990). Prevalência de microfilárias de *Dirofilaria immitis* em cães do Estado de São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 27(2), 183–186. <https://doi.org/10.11606/issn.0000-0000.272183-186>.
- Lira, R. N., Lempek, M. R., Neves, C. C., Souza Junior, J. C., & Poffo, G. L. D. (2016). Pesquisa de *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* no canil municipal de Itajaí, Santa Catarina, Brasil. *PUBVET*, 6, Art-1363. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v6n17.1364>.
- López, J., Valiente-Echeverría, F., Carrasco, M., Mercado, R., & Abarca, K. (2012). Identificación morfológica y molecular de filarias caninas en una comuna semi-rural de la Región Metropolitana, Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 29(3), 248–289. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000300006>.
- Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T. J., & Deplazes, P. (2013). Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. *Parasites & Vectors*, 6(1), 1–5. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-48>.
- Nelson, T., McCall, J. W., & Carinthers, D. (2020). Orientações atuais para prevenção, diagnóstico e controle da dirofilariose (*Dirofilaria immitis*) em cães. In *American Heartworm Society* (pp. 1–6).
- Newton, W. L., & Wright, W. H. (1956). The occurrence of a dog filariid other than *Dirofilaria immitis* in the United States. *The Journal of Parasitology*, 42(3), 246–258. <https://doi.org/10.2307/3274849>.
- Patton, S., & Faulkner, C. T. (1992). Prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* infection in dogs: 805 cases (1980-1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200(10), 1533–1534.
- Romero-Rodríguez, P., García-y-González, E., Santos-Sotomaior, C., Pineda-Burgos, B., Olivares-Valladolid, G., Hernández-Ruiz, P., & Ponce-Covarrubias, J. (2019). Prevalence of *Dirofilaria immitis* in domestic canines from two municipalities in the tropic of Guerrero, Mexico. *Abanico Veterinario*, 9(1), 1–11.
- Santos Filho, M., Alberigi, B., Balias, D. M. P., Lemos, N. M. O., Bendas, A. J. R., & Paiva, J. P. (2021). Canine heartworm: natural infection along remote coastal area of Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 43(1), e000220–e000220. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm000220>.
- Sawyer, T. K., Rubin, E. F., & Jackson, R. F. (1965). The cephalic hook in microfilariae of *Dipetalonema reconditum* in the differentiation of canine microfilariae. *The Helminthological Society of Washington*, 32, 15–20.
- Soulsby, E. J. L. (1988). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. Interamericana.

**Histórico do artigo:****Recebido:** 1 de dezembro de 2021**Aprovado:** 31 de janeiro de 2022**Disponível online:** 26 de março de 2022**Licenciamento:** Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.