

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v19n11e1858>

Adequação da técnica de citologia fecal aplicada a bovinos leiteiros

Aline de Assis Rosa^{1*}, Anamaia Demutris Miranda¹, Andressa Oliveira Machado¹, Maria Eduarda dos Santos¹, Pricilla Pozzatti², Nathan da Rocha Neves Cruz³

¹Discente do Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal Catarinense - IFC, Araquari, Santa Catarina, Brasil.

²Docente do Curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal Catarinense – IFC, Araquari, Santa Catarina, Brasil.

³Docente do Instituto Federal Catarinense, Campus Santa Rosa do Sul, SC, Brasil

*Autor para correspondência, E-mail: alineassis5@yahoo.com.br.

Resumo. O presente estudo objetivou aprimorar a citologia fecal como método diagnóstico mais acessível e menos invasivo. Foram coletadas amostras de fezes de 14 vacas leiteiras em três momentos, com intervalos de 28 dias, obtidas por toque retal, armazenadas e transportadas em caixa térmica. A técnica consistiu na adaptação do esfregaço otológico, utilizando *swab* rolado sobre lâminas e duas colorações (Panótico Rápido e May-Grünwald Giemsa). A adaptação mostrou-se funcional, desde que os esfregaços fossem finos, com melhor visualização no Panótico Rápido. A técnica pode ser aplicada em contextos com recursos limitados, embora a interpretação exija experiência devido à presença de detritos fecais. Destaca-se o potencial da citologia fecal como ferramenta de triagem na medicina veterinária e a necessidade de estudos adicionais para seu refinamento e validação.

Palavras-chave: Adaptação de técnica, análise fecal, microbiota intestinal.

Adequacy of the fecal cytology technique applied to dairy cattle

Abstract. The present study aimed to improve fecal cytology as a more accessible and less invasive diagnostic method. Fecal samples from 14 dairy cows were collected at three 28-day intervals via digital rectal examination and processed immediately. The technique consisted of adapting an otological smear using a sterile *swab* rolled onto glass slides, followed by Rapid Panoptic or May-Grünwald Giemsa staining. The adapted method proved functional when thin smears were prepared, with clearer visualization when using Rapid Panoptic staining. This approach may be useful in settings with limited resources, although interpretation requires expertise due to fecal debris. Fecal cytology shows potential as a screening tool in veterinary medicine, and further studies are needed for refinement and validation.

Keywords: Technique adaptation, fecal analysis, intestinal microbiota.

Introdução

A medicina veterinária, em sua constante evolução, busca ferramentas diagnósticas sensíveis, específicas, menos invasivas e com custos acessíveis para a avaliação da saúde animal ([Arns & Reis, 2011](#); [Johnson et al., 2004](#)). O panorama da coprocitobiologia tem se transformado, e sua utilidade cresce consideravelmente, uma vez que os custos das técnicas moleculares permanecem elevados, e a citologia oferece uma alternativa econômica e simples aos métodos de triagem molecular ([Raskin & Meyer, 2011](#); [Ryan et al., 2021](#); [Trindade et al., 2008](#)).

Alterações na microbiota intestinal podem impactar negativamente a saúde do hospedeiro, pois o trato gastrointestinal abriga grande parte do tecido linfóide associado à mucosa, sendo central para a resposta imune e para a saúde geral do animal. Tais alterações estendem seus efeitos para além do trato gastrointestinal, englobando diferentes e, consequentemente, o desempenho produtivo ([Jing et al., 2021](#); [Linnehan et al., 2024](#)).

Nesse contexto, a citologia configura-se como um recurso diagnóstico relevante, permitindo a identificação e diferenciação de tipos celulares, distúrbios infecciosos, inflamatórios, fúngicos (filamentosos ou leveduriformes), neoplasias e parasitas em diferentes estágios de desenvolvimento ([Raskin & Meyer, 2011](#); [Trindade et al., 2008](#)). Além disso, proporciona uma visão abrangente da saúde intestinal, indo além da mera identificação de parasitas do trato gastrointestinal em humanos e animais ([Gomez et al., 2017](#)).

A análise de fezes é uma ferramenta valiosa para avaliação da função e da integridade do intestino. Estudos realizados por [Bugrov et al. \(2022\)](#) demonstram que a microbiota intestinal está envolvida em diversos processos fisiológicos essenciais à saúde do hospedeiro, como homeostase energética, metabolismo, modulação imunológica. Portanto, a citologia fecal por esfregaço direto pode ser empregada na avaliação da microbiota fecal, além de contribuir para a determinação da integridade da mucosa intestinal. Processos infecciosos que causam lesões na superfície mucosa resultam na presença de grandes quantidades de neutrófilos e macrófagos nas fezes ([Greene & Appel, 2011](#)).

Diante disso, destaca-se a relevância do aprimoramento das metodologias relacionadas à citologia fecal. O presente estudo propôs que o método citológico, baseado na técnica otológica de rolamento de *swab* em lâmina de vidro, aliado às colorações tradicionais utilizadas em citologia sanguínea, atende aos critérios necessários para a citologia fecal em uso rotineiro, oferecendo uma alternativa não invasiva e econômica às análises convencionais.

Material e métodos

Foram coletadas amostras de fezes de 14 vacas leiteiras (aproximadamente 20 a 30 gramas por animal), pertencentes à Unidade de Ensino e Aprendizagem do Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari (UEA-IFC/Araquari). Os animais tinham idades entre dois e oito anos.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal Catarinense (CEUA-IFC), e todas as etapas foram conduzidas de acordo com as diretrizes institucionais para bem-estar animal.

As coletas ocorreram com intervalos de 28 dias, totalizando três coletas por animal. O procedimento de coleta consistiu na realização de toque retal, que envolve a introdução da mão enluvada no reto do animal para obtenção da amostra. Ao retirar a mão do ânus, a luva deve ser removida virando-a do avesso e amarrada com um nó, formando um invólucro para proteger a amostra ([Ueno & Gonçalves, 1998](#)). Cada amostra foi identificada com o número do brinco do respectivo animal.

As amostras foram armazenadas em caixa térmica (isopor) com gelo artificial e transportadas imediatamente ao Laboratório de Patologia Clínica do Centro de Práticas Clínicas e Cirúrgicas (CPCC), onde foram processadas em menos de 4 horas.

O método adotado foi uma adaptação da técnica de esfregaço otológico. Para isso, um *swab* estéril foi passado nas fezes coletadas e, em seguida, rolado sobre duas lâminas de vidro para cada amostra. O *swab* foi rolado suavemente sobre a lâmina limpa, formando uma linha. Em seguida, repetiu-se o movimento sem sobrepor as linhas. A quantidade de fezes foi padronizada (aproximadamente 20–30 mg por amostra), garantindo uniformidade entre os esfregaços. A espessura do esfregaço foi controlada visualmente e considerada adequada quando permitia a leitura nítida de células individuais sem aglomerações. Foram adotados procedimentos de controle de contaminação, incluindo uso de materiais estéreis. Estabeleceram-se critérios de rejeição, como presença de fissuras, artefatos de secagem, excesso de material ou sobreposição que impedisse a avaliação celular. As lâminas foram deixadas para secar à temperatura ambiente (15° a 25°C) ([Cowell & Tyler, 2009](#); [Raskin & Meyer, 2011](#); [Valenciano & Cowell, 2019](#)).

Com os esfregaços prontos, foram realizadas duas técnicas de coloração por amostra:

1. Panótico Rápido ([Laborclin, 2011](#)): A lâmina foi imersa no fixador (solução de triarilmetano) por 30 segundos. Em seguida, o excesso foi escorrido, e a lâmina foi mergulhada na solução de xantenos (primeiro corante) por 30 segundos e, posteriormente, na solução de tiazinas (segundo corante) por

mais 30 segundos. Após a coloração, a lâmina foi lavada em água corrente e deixada secar em posição vertical, à temperatura ambiente, para posterior análise em microscópio óptico.

2. *May-Grünwald Giemsa* (NEWPROV – [Fallis, 2013](#); [Wolf et al., 1973](#)): A lâmina foi coberta com álcool metílico (fixador) por 4 minutos. Em seguida, o excesso foi descartado, e adicionou-se o corante *May-Grünwald Giemsa*, que permaneceu em contato com a lâmina por 12 minutos. Após esse período, o corante foi removido, a lâmina lavada em água corrente e deixada secar verticalmente à temperatura ambiente

Essas técnicas, comumente empregadas em esfregaços sanguíneos, líquidos corporais e tecidos, foram adaptadas para o uso em lâminas fecais. Após a coloração, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico, utilizando objetiva de 100x com óleo de imersão (aumento total de 1000x). Para padronização da leitura, foram avaliados 10 campos consecutivos por lâmina, selecionados na região de melhor distribuição e menor sobreposição do material, evitando áreas espessas ou com artefatos. A quantificação das estruturas foi expressa em células por campo de grande aumento (células/HPF) e, quando aplicável, em porcentagem relativa ao total de células identificáveis. Para assegurar a consistência das observações, duas leituras independentes foram realizadas por avaliadores treinados, de forma cegada quanto à coloração, sendo calculada a concordância intra e interobservador. Lâminas foram repetidas sempre que a variação entre observadores excedeu 20%, garantindo repetibilidade mínima do método.

Os resultados das observações foram registrados em tabela, utilizando o sistema semiquantitativo em cruzes (+, ++ e +++) complementado pelos valores médios obtidos em células/HPF ([BRASIL 2009](#)). Como os escores apresentaram distribuição não normal e natureza ordinal, foi utilizado um teste não paramétrico apropriado para comparação entre duas medidas pareadas, adotando-se $p < 0,05$ como nível de significância.

Resultados e discussão

A técnica adaptada para esse estudo é funcional, mas para obter melhores resultados, os esfregaços devem ser preparados com uma fina camada da amostra. Os corantes Panótico Rápido e *May-Grünwald Giemsa* atendem às necessidades desse exame, sendo observada maior facilidade na identificação das estruturas na coloração de panótico rápido. A única diferença estatística encontrada entre as colorações foi a relacionada aos leucócitos contados, havendo um maior número destes observados em Panótico Rápido, conforme [tabela 1](#). O uso dessa adaptação pode ser especialmente útil em situações em que técnicas específicas para cada análise não estejam disponíveis ou sejam de difícil acesso, como em trabalhos a campo, podendo também se tornar usual em exames de triagem. Entretanto, é importante mencionar que a técnica utilizada no presente estudo, apesar de exigir poucos equipamentos e instalações técnicas, demanda vasto conhecimento e treinamento adequado, com olhar técnico apurado para identificar e diferenciar corretamente as estruturas visualizadas nas lâminas ([Figura 1](#)).

Tabela 1. Resultados das diferenças entre as colorações de panótico rápido e *May-Grünwald Giemsa* no método de *Kruskal-Wallis*

Colorações	Escore	Valores de p
Panótico Rápido X <i>May-Grünwald Giemsa</i>	Parasitas	0,32
	Ovos	0,15
	Leucócitos	0,03
	Hemácias	0,32
	Bactérias	0,05

Os achados do presente estudo, particularmente a visualização de células inflamatórias e de estruturas compatíveis com parasitas em algumas lâminas, estão em consonância com evidências de que processos infecciosos gastrointestinais podem comprometer a integridade da mucosa e desencadear respostas locais. A microbiota intestinal desempenha papel essencial na manutenção da barreira epitelial, digestão de nutrientes e modulação imunológica ([Jha & Berrocso, 2015](#); [Sender et al., 2021](#)), e alterações nesse equilíbrio, especialmente em ruminantes de produção, podem resultar em inflamação e redução do desempenho produtivo ([Gresse et al., 2017](#)). Embora a citologia fecal não permita a avaliação direta da microbiota, a identificação citológica de células inflamatórias pode atuar como indicativo indireto de

agressão mucosa e auxiliar na triagem de animais potencialmente acometidos por enteropatias. Nesse contexto, a técnica pode complementar métodos coproparasitológicos convencionais, reforçando seu potencial como ferramenta prática de monitoramento sanitário em campo.

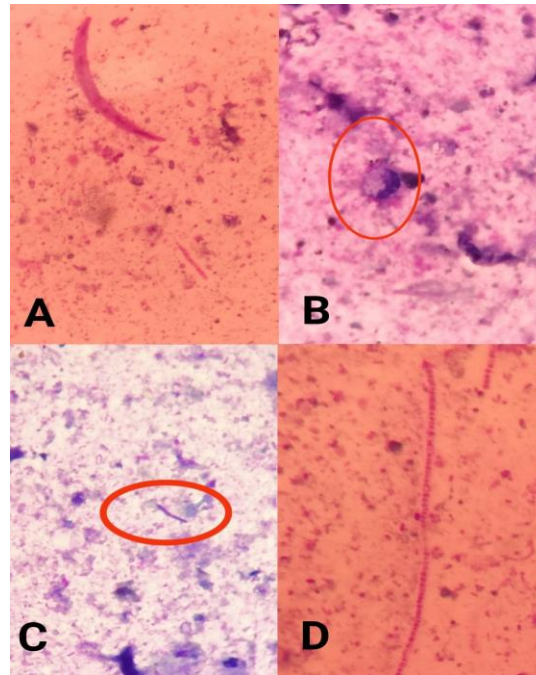


Figura 1. Elementos celulares e microbianos observados em esfregaços fecais corados, (1000X). **A:** Estrutura parasitária evidenciada em lâmina corada pelo método *May-Grünwald Giemsa*. **B:** Leucócito em lâmina corada com panótico rápido. **C:** Bacilos bacterianos visualizados em lâmina corada com Panótico Rápido **D:** Cadeias de estreptococos observadas em lâmina corada pelo método *May-Grünwald Giemsa*

A presença de detritos fecais pode facilmente levar a interpretações equivocadas durante a análise citológica. Para minimizar esses efeitos, podem ser utilizadas técnicas comumente aplicadas na medicina humana, como a filtração por tamanho ou por gradiente de densidade, separação imunomagnética, dispositivos microfluídicos, isolamento de células hospedeiras fecais por meio de lavagens superficiais ou, ainda, imunocitoquímica de células isoladas ([Ryan et al., 2021](#)).

Os resultados deste estudo demonstram grande potencial ao contribuir para a compreensão da complexa relação entre o hospedeiro e a microbiota intestinal. Os intestinos constituem um ambiente dinâmico, que abriga uma vasta comunidade de microrganismos interagindo em simbiose com o hospedeiro, promovendo benefícios mútuos. Essa associação microbiana intrínseca desempenha um papel determinante e multifacetado: além de otimizar a biodisponibilidade de nutrientes e a eficiência digestiva, exerce influência significativa na modulação e no desenvolvimento do sistema imunológico dos animais ([Liu et al., 2024](#)).

Apesar da sua importância, a compreensão aprofundada da rede microbiana intestinal sob a ótica da citologia fecal ainda se apresenta como um desafio. As pesquisas sobre o tema, por vezes, mostram-se fragmentadas, o que dificulta uma visão integrada e abrangente. Nesse cenário, é relevante destacar que o estudo da citologia fecal como técnica de uso rotineiro na medicina veterinária encontra-se ainda em seus estágios iniciais, oferecendo um vasto campo para futuras investigações e para o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas. Nos últimos anos, o interesse na interação entre a microbiota intestinal e o hospedeiro tem aumentado, impulsionado pelas numerosas evidências da influência das bactérias intestinais na saúde e na origem de doenças e condições patológicas ([Bugrov et al., 2022](#); [Liu et al., 2024](#)).

Frequentemente, sangue ou hemoglobina podem ser encontrados nas fezes, com diversas possíveis origens, como feridas orais, lesões gástricas, lacerações retais, epistaxe ou lambadura de feridas ([Munch et al., 2020](#)). Além disso, é possível identificar protozoários e outros parasitas por meio da técnica de citologia fecal. Embora essa não seja sua principal finalidade, estudos conduzidos por [Wu et al. \(2020\)](#)

avaliaram a prevalência e as características moleculares de *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* e *Enterocytozoon bieneusi* em amostras fecais de gado amarelo tibetano e iaques.

Em outra linha de pesquisa, simbióticos foram utilizados como aditivos alimentares na produção animal, configurando-se como alternativa ao uso de antibióticos para manutenção da microbiota intestinal e proteção contra infecções. Nessa investigação, a contagem fecal de bactérias probióticas aumentou nos grupos suplementados, em comparação com o grupo controle. Além disso, houve redução da amônia fecal e da incidência de diarreia, enquanto os níveis de ácidos graxos voláteis e de enzimas antioxidantes aumentaram nos grupos tratados ([Sharma et al., 2023](#)).

Na medicina humana, a citologia fecal vem ganhando destaque, consolidando-se como uma ferramenta diagnóstica confiável, com menor invasividade e custos reduzidos. Estudos apontam para uma desregulação da microbiota intestinal em pacientes com diversas patologias ([Bugrov et al., 2022](#); [Chen et al., 2022](#); [Guard et al., 2017](#); [Jing et al., 2021](#); [Linnehan et al., 2024](#); [Panziera et al., 2014](#)).

De forma comparativa, a pesquisa veterinária sobre a citologia fecal surge como uma abordagem promissora e inovadora, oferecendo os mesmos benefícios observados na medicina humana, com vantagens adicionais como menor custo e aplicação prática em campo. Assim, a análise citológica das fezes em animais se destaca como um teste de triagem eficaz e uma ferramenta diagnóstica de grande potencial, refletindo a relevância e as vantagens já consolidadas em contextos clínicos humanos.

Referências

- Arns, E. M. G. C., & Reis, S. T. J. (2011). *Medicina veterinária legal como especialidade médico veterinária. Orientações ao médico veterinário: Manual de direitos e deveres* (Vol. 1). SINDIVET.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Diagnóstico Laboratorial da Malária. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2ª ed. Brasília, 2009. 65 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_diagnostico_laboratorial_malaria.pdf.
- BRASIL. Ministério da Saúde. MEDEIROS, Sérgio raposo; et al. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. Brasília: Embrapa, 2015. 176 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1041926/nutricao-de-bovinos-de-corte-fundamentos-e-aplicacoes>.
- Bugrov, N., Rudenko, P., Lutsay, V., Gurina, R., Zharov, A., Khairova, N., Molchanova, M., Krotova, E., Shopinskaya, M., Bolshakova, M., & Popova, I. (2022). Fecal Microbiota Analysis in Cats with Intestinal Dysbiosis of Varying Severity. *Pathogens*, 11(2), 234. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020234>.
- Chen, Y. C., Lin, H. Y., Chien, Y., Tung, Y. H., Ni, Y. H., & Gau, S. S. F. (2022). Altered gut microbiota correlates with behavioral problems but not gastrointestinal symptoms in individuals with autism. *Brain, Behavior, and Immunity*, 106, 161–178. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2022.08.015>.
- Cowell, R. L., & Tyler, R. D. (2009). *Diagnostic cytology and hematology of the horse E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Fallis, A. G. (2013). May-Grunwald-Giemsa staining. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9).
- Gomez, D. E., Arroyo, L. G., Costa, M. C., Viel, L., & Weese, J. S. (2017). Characterization of the Fecal Bacterial Microbiota of Healthy and Diarrheic Dairy Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(3), 928–939. <https://doi.org/10.1111/jvim.14695>.
- Greene, C. E., & Appel, M. J. (2011). Canine distemper. In C. E. Greene (Ed.), *Enfermedades infecciosas: Perros y gatos* (pp. 25–41). Editora Interamericana.
- Gresse, R., Chaucheyras-Durand, F., Fleury, M. A., Van de Wiele, T., Forano, E., & Blanquet-Diot, S. (2017). Gut microbiota dysbiosis in animals: Impact on health and disease. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–17.
- Guard, B. C., Mila, H., Steiner, J. M., Mariani, C., Suchodolski, J. S., & Chastant-Maillard, S. (2017). Characterization of the fecal microbiome during neonatal and early pediatric development in puppies. *PLoS ONE*, 12(4), e0175718. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175718>.
- Jha, R., & Berrocoso, J. F. D. (2015). Dietary fiber and its impact on gut health and performance of monogastric animals: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 212, 1–17.

- Jing, Y., Yu, Y., Bai, F., Wang, L., Yang, D., Zhang, C., Qin, C., Yang, M., Zhang, D., Zhu, Y., Li, J., & Chen, Z. (2021). Effect of fecal microbiota transplantation on neurological restoration in a spinal cord injury mouse model: involvement of brain-gut axis. *Microbiome*, 9(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01007-y>.
- Johnson, K. A., Watson, A. D. J., Ettinger, S. J., & Feldman, E. C. (2004). *Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do cão e do gato*. Manole Ltda.
- Laborclin. (2011). Manual para Antibiógrama. *Laborclin*.
- Linnehan, B. K., Koder, S. M., Allard, S. M., Brodie, E. C., Allaband, C., Knight, R., Lutz, H. L., Carroll, M. C., Meegan, J. M., Jensen, E. D., & Gilbert, J. A. (2024). Evaluation of the safety and efficacy of fecal microbiota transplantations in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) using metagenomic sequencing. *Journal of Applied Microbiology*, 135(2). <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae026>
- Liu, S., Yang, L., Zhang, Y., Chen, H., Li, X., Xu, Z., Du, R., Li, X., Ma, J., & Liu, D. (2024). Review of yeast culture concerning the interactions between gut microbiota and young ruminant animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1335765>.
- Munch, S. L., Nielsen, S. S., Krogh, M. A., & Capion, N. (2020). Evaluation of two fecal occult blood tests for detecting non-perforating abomasal lesions in cattle. *Animals*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/ani10122356>.
- Panziera, W., Bianchi, R. M., Galiza, G. J. N., Pereira, P. R., Mazaro, R. D., Barros, C. S. L., Kommers, G. D., Irigoyen, L. F., & Figuera, R. A. (2014). Aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos do linfoma em bovinos: 128 casos (1965-2013). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(9), 856–864. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2014000900009>.
- Raskin, R. E., & Meyer, D. J. (2011). *Citologia de cães e gatos: Atlas colorido e guia de interpretação*. Elsevier Brasil.
- R-Core-Team. (2016). *R: A language and environment for statistical computing*. R. Foundation for Statistical Computing.
- Ryan, L., Wong, Y. T., Dwyer, K. M., Clarke, D., Kyprian, L., & Craig, J. M. (2021). Coprocycobiology: A Technical Review of Cytological Colorectal Cancer Screening in Fecal Samples. *SLAS Technology*, 26(6), 591–604. <https://doi.org/10.1177/24726303211024562>.
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2021). Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *Cell*, 164, 337–340.
- Sharma, A. N., Chaudhary, P., Kumar, S., Grover, C. R., & Mondal, G. (2023). Effect of symbiotic on growth performance, gut health, and immunity status in pre-ruminant buffalo calves. *Scientific Reports*, 13(1), 10184. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37349514/>
- Trindade, D. B. M., Cavalheiro, A. L. B., Lopes, A. A., Santurio, S. T., Mazzanti, J. M., & Eduardo Schossler, J. E. (2008). Diagnóstico de criptococose canina pela citologia aspirativa por agulha fina. *Ciência Rural*, 38(3), 1–6.
- Ueno, H., & Gonçalves, P. C. (1998). *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes* (Vol. 1). Japan International Cooperation Agency.
- Valenciano, A. C., & Cowell, R. L. (2019). *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat-E-Book*. Elsevier Health Sciences. <https://doi.org/DOI: 10.1016/c2016-0-02017-x>.
- Wolf, P. L., Ferguson, P., & Mills, I. T. (1973). Practical clinical hematology. Interpretations and Techniques. *Wiley, New York*, (468 p.) \$8.50, 375–376. <https://doi.org/10.1136/jcp.27.5.433-a>.
- Wu, Y., Chen, Y., Chang, Y., Zhang, X., Li, D., Wang, L., Zheng, S., Wang, R., Zhang, S., Li, J., & Zhang, L. (2020). Genotyping and identification of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis* and *Enterocytozoon bieneusi* from free-range Tibetan yellow cattle and cattle-yak in Tibet, China. *Acta Tropica*, 212, 105671. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105671>.

Histórico do artigo:**Recebido:** 25 de agosto de 2025**Aprovado:** 22 de setembro de 2025

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.