

Artigo original

Elucidação de um surto epidêmico em instituição escolar: detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em água de retrolavagem de filtro

Elucidation of an epidemic outbreak in a school institution: detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in filter backwash water

Laís Fernanda de Pauli-Yamada^[1] , Jessica Penatti^[1] , Páscoa Aparecida Bichiato^[2] , Ricardo Ramos Cabrera^[2] , Jessica Penatti^[1] , Ricardo Gava^[3] , Vera Lucia Pereira-Chioccola^[3] , Maria Aparecida Moraes Marciano^[1] 

^[1]Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, Centro de Alimentos, Núcleo de Morfologia e Microscopia, São Paulo, São Paulo, Brasil

^[2]Secretaria Municipal de Saúde, Divisão de Vigilância em Saúde, Cotia, São Paulo, Brasil

^[3]Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças, Instituto Adolfo Lutz, Centro de Parasitologia e Micologia, Laboratório do Biologia Molecular de Parasitas e Fungos, São Paulo, São Paulo, Brasil

Autor para correspondência

Maria Aparecida Moraes Marciano

E-mail: maria.marciano@ial.sp.gov.br

Instituição: Instituto Adolfo Lutz (IAL)

Endereço: Avenida Doutor Arnaldo, 355, CEP: 01246-902. Pacaembú, São Paulo, Brasil

Como citar

Pauli-Yamada LF, Bichiato PA, Cabrera RR, Penatti J, Gava R. Pereira-Chioccola VL, Marciano MAM. Elucidação de um surto epidêmico em uma instituição escolar: detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em água de retrolavagem de filtro. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2025; 22: e41669. DOI: <https://doi.org/10.57148/bepa.2025.v.22.41669>

Primeira submissão: 02/07/2025 • Aceito para publicação: 17/09/2025 • Publicação: 29/09/2025

Editora-chefe: Regiane Cardoso de Paula

Resumo

Introdução: A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que acomete humanos, animais domésticos e silvestres, configurando um exemplo paradigmático de Saúde Única por sua presença em múltiplos ecossistemas, incluindo água, solo e alimentos. Sua ocorrência é frequentemente associada a surtos, especialmente em indivíduos suscetíveis, como crianças e idosos. **Objetivo:** Este estudo investigou um surto de toxoplasmose em uma instituição escolar no município de Cotia, São Paulo, por meio de análises microscópicas e moleculares, visando identificar a provável fonte de contaminação e subsidiar ações preventivas. **Métodos:** Foram examinadas amostras de alimentos, solos arenoso e argiloso, vegetais, água filtrada e água de retrolavagem de filtros. **Resultados:** Oocistos e DNA de *T. gondii* foram detectados na água de retrolavagem, indicando contaminação prévia da água consumida na instituição. **Conclusão:** Os achados reforçam a relevância dessa matriz no diagnóstico de surtos com potencial transmissão hídrica e como indicadora da presença de microrganismos patogênicos.

Palavras chave: surto, *Toxoplasma gondii*, veiculação hídrica, vigilância epidemiológica.

Abstract

Introduction: Toxoplasmosis is a cosmopolitan zoonosis caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*, affecting humans, domestic animals, and wildlife, and representing a paradigmatic example of the One Health concept due to its occurrence across multiple ecosystems, including water, soil, and food. Its occurrence is frequently associated with outbreaks, particularly among susceptible individuals such as children and the elderly. **Objective:** This study investigated a toxoplasmosis outbreak in a school institution in the municipality of Cotia, São Paulo, through microscopic and molecular analyses aimed at identifying the probable source of contamination and supporting preventive measures. **Methods:** Samples of food, sandy and clay soils, vegetables, filtered water, and backwash water from filters were examined. **Results:** *T. gondii* oocysts and DNA were detected in the filter backwash water, indicating prior contamination of the water consumed at the institution. **Conclusion:** These findings highlight the relevance of this matrix in diagnosing outbreaks with potential waterborne transmission and as an indicator of the presence of pathogenic microorganisms.

Palavras chave: outbreak, *Toxoplasma gondii*, waterborne transmission, epidemiologic surveillance.

Introdução

A toxoplasmose, doença infecciosa causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, constitui importante problema de saúde pública, sobretudo em populações vulneráveis, como crianças e gestantes. Na maioria dos casos a infecção é assintomática ou com sintomas leves, como dores musculares, fadiga, falta de apetite, febre e alterações nos gânglios linfáticos em adultos saudáveis. Em crianças esta infecção pode provocar quadros graves, incluindo encefalite e danos neurológicos permanentes.¹

A infecção ocorre pela ingestão de cistos ou oocistos de *T. gondii*, geralmente presentes em água ou alimentos contaminados, ou por contato com fezes de felinos infectados. No organismo, os parasitos agem de forma sistêmica, atingindo as células nucleadas no hospedeiro. O suco gástrico estimula a liberação dos esporozoítos presentes no interior do oocisto, que se transformam em taquizoítos, capazes de invadir células epiteliais intestinais e, em seguida, outras células nucleadas, onde se multiplicam até romperem a célula hospedeira.^{1,2}

A transmissão congênita pode causar microcefalia, hidrocefalia, lesões musculares, cardíacas, oculares e neurológicas, além de aborto. Em indivíduos imunocomprometidos, a toxoplasmose pode se manifestar com sintomas mais severos, como confusão mental e convulsões.³

O *T. gondii* sobrevive por longos períodos em ambientes com condições adequadas de temperatura e umidade, permanecendo viável por até 54 meses na água e 18 meses no solo.⁴⁻⁶

Em junho de 2024, um surto de toxoplasmose em uma escola no município de Cotia, estado de São Paulo (SP) acometeu 17 estudantes da educação infantil com idades entre três e quatro anos. Todas as crianças apresentaram teste sorológico para *T. gondii* reagente para IgM, indicando infecções recentes. Dada a gravidade do caso, a Vigilância Sanitária estadual acionou o Núcleo de Morfologia e Microscopia do Instituto Adolfo Lutz, uma unidade comumente solicitada para auxiliar o diagnóstico de surtos epidemiológicos de *T. gondii* e outros protozoários veiculados por alimentos e água; o Núcleo realiza análises laboratoriais de amostras ambientais potencialmente associadas a surtos. Diante dos dados supramencionados, o objetivo do presente estudo foi investigar a provável fonte de contaminação da instituição escolar, por meio de análises microscópicas e moleculares de amostras ambientais e de alimentos servidos aos alunos, a fim de subsidiar a implementação de ações preventivas eficazes, determinada pelo serviço de vigilância. Ressalta-se a importância de se ampliar o escopo das amostras analisadas durante surtos, incluindo matrizes não convencionais, como a água de retrolavagem de filtros, as quais podem revelar prováveis contaminantes e contribuir para a elucidação da cadeia de transmissão.

Processamento das amostras

As amostras foram processadas conforme protocolos específicos para cada matriz.^{7,8} As amostras dos vegetais (alface e salsa) foram lavadas com solução de glicina 1 M (pH 5,5) para a liberação de oocistos aderidos à superfície das folhas; os líquidos de lavagem foram centrifugados e concentrados. A amostra de fezes de felino foi diluída e centrifugada e o sobrenadante concentrado e analisado. As amostras de solo arenoso e argiloso foram lavadas com solução de glicina 1 M (pH 5,5), sob agitação, seguidas de centrifugação; o concentrado resultante foi analisado. As amostras de carne foram digeridas com solução de pepsina (0,5% em HCl 1%) a 37°C por 1 hora, com agitação constante; após a digestão o material foi centrifugado e o sedimento utilizado nas análises. As amostras de água de retrolavagem e abastecimento foram filtradas em membranas com poros de 1,2 µm; o material retido foi raspado, concentrado por centrifugação e analisado. As centrifugações foram realizadas a 3450 rpm por 10 min.

Métodos de análise: microscopia ótica e PCR em tempo real (qPCR)

Após as etapas de concentração específicas para cada tipo de matriz, os sedimentos foram examinados por microscopia ótica a 400× para detecção morfológica de oocistos de *T. gondii*, considerando sua forma esférica ou ovoidal, parede dupla e tamanho entre 10 e 12 µm.

As extrações de DNA foram realizadas utilizando-se o kit comercial específico DNeasy PowerSoil Pro – Qiagen®; foram seguidas as instruções do fabricante, que recomendavam maior tempo de agitação para aumento da eficiência e liberação das moléculas de DNA. As concentrações e a pureza do DNA foram determinadas pela razão entre a O.D. a 260 e a 280 nm em um NanoDrop ND1000 (Thermo Scientific®, Waltham, MA, EUA).

As reações de amplificação foram realizadas visando amplificar um fragmento específico (REP-529) do gene B1 de *T. gondii* (GenBank AF487550), altamente conservado.^{9,10} Cada reação foi composta de um volume final de 20 µL, contendo 0,5 µL de cada marcador molecular, 0,25 µL da sonda TaqMan e 10 µL de 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems®).

As reações foram realizadas no equipamento QantStudio 5 (Applied Biosystems®), em volume final de 20µL por reação. Em todas as reações foram adicionados controle positivo, obtido a partir de DNA extraído de oocistos, e um controle negativo, água ultrapura. As amplificações ocorreram em um ciclo inicial de 50°C por dois minutos e um ciclo a 95°C por dez minutos; em seguida foram realizados 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e a 60°C por um minuto.

Resultados

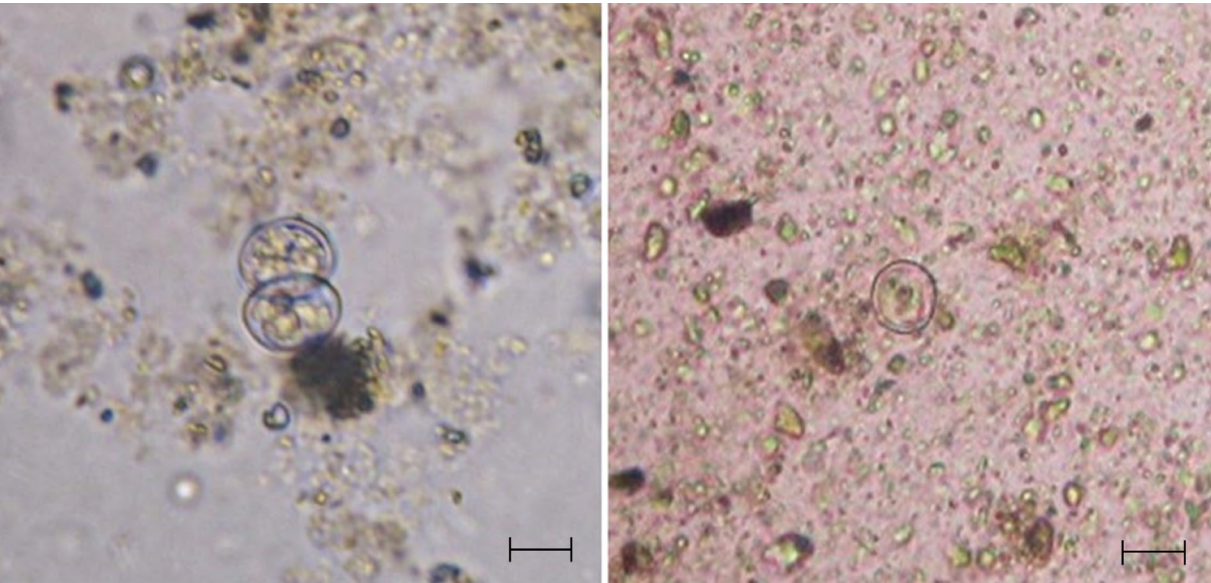
Os resultados descritos no Quadro 1 mostram a detecção de *T. gondii* nas amostras das matrizes ambientais e alimentares realizadas na primeira coleta, analisadas por microscopia óptica e qPCR. Somente a amostra de água oriunda do filtro de retrolavagem apresentou resultado positivo (e segundo ambas as metodologias). A [Figura 2](#) apresenta imagens microscópicas de oocistos de *T. gondii* isolados de amostras de água de retrolavagem dos filtros da instituição escolar.

Quadro 1. Primeira coleta: resultados das análises microscópica e molecular para oocistos de *T. gondii* nas amostras ambientais coletadas na escola

Amostras	Resultados	
	Microscopia	qPCR
Salsa	Negativo	Negativo
Alface	Negativo	Negativo
Carne bovina moída	Negativo	Negativo
Fezes de animal	Negativo	Negativo
Areia da caçamba	Negativo	Negativo
Areia do parquinho	Negativo	Negativo
Areia da rampa fechada	Negativo	Negativo
Areia da quadra	Negativo	Negativo
Solo do parque	Negativo	Negativo
Solo do jardim da sala de aula	Negativo	Negativo
Água do filtro de retrolavagem	Positivo	Positivo

Fonte: elaborada pelos autores.

Figura 2. Oocistos de *T. gondii* isolados da amostra de água de retrolavagem de filtro vistos por microscopia de campo claro (aumento de 40x)



Fonte: elaborada pelos autores.

Na segunda coleta, apenas as amostras de água de retrolavagem, coletadas em diferentes pontos da escola, apresentaram resultados positivos, conforme apresentado no Quadro 2; no entanto, no bebedouro da área infantil, a análise microscópica não identificou a presença de oocistos.

Quadro 2. Segunda coleta: resultados das análises microscópica e molecular para oocistos de *T. gondii* em amostras de água coletadas na escola

Amostras	Resultados	
	Microscopia	qPCR
Água bebedouro salas de aula	Negativo	Negativo
Água de retrolavagem/bebedouro da área infantil	Negativo	Positivo
Água de retrolavagem/bebedouro do refeitório	Negativo	Negativo
Água de retrolavagem/bebedouro da quadra	Negativo	Negativo
Água de retrolavagem/bebedouro do pátio	Positivo	Positivo
Água cavalete (abastecimento municipal)	Negativo	Negativo
Água após passagem filtro central	Negativo	Negativo

Fonte: elaborada pelos autores.

Discussão

Segundo diretrizes brasileiras do Ministério da Saúde,⁷ a investigação de surtos deve contemplar múltiplas fontes e matrizes ambientais, sendo a análise da água utilizada nos sistemas de abastecimento uma etapa fundamental para a identificação das possíveis rotas de transmissão.

No caso de surtos associados a *T. gondii*, a detecção do parasito em amostras ambientais representa um desafio considerável, dada a diversidade de potenciais fontes contaminadas, como água, solo, areia e alimentos, conforme documentado na literatura.¹¹⁻¹³

Durante a investigação, foram analisadas amostras de alimentos, solo e areia, além de amostras de água coletadas em diferentes pontos da instituição escolar. Adicionalmente, a presença de fezes suspeitas de origem felina, o principal hospedeiro definitivo e vetor na disseminação de oocistos de *T. gondii*, justificou a inclusão desse material nas análises. No entanto, os resultados laboratoriais apontaram presença de oocistos apenas nas amostras de água de retrolavagem dos filtros dos bebedouros localizados na área infantil e no pátio; logo, esses são os pontos críticos da dinâmica de contaminação.

A ausência do parasito nas demais amostras de água coletadas indica que a contaminação ocorreu em período anterior à coleta, destacando uma limitação recorrente nas investigações epidemiológicas de surtos: a defasagem temporal entre a ocorrência do evento e a disponibilidade das matrizes contaminadas para análise. Este intervalo muitas vezes compromete a detecção direta do agente etiológico, dificultando a confirmação laboratorial da fonte.⁶

Diante dessas limitações, a elucidação da provável origem de surtos de toxoplasmose depende de uma abordagem integrada, que combine investigações epidemiológicas, dados clínicos e laboratoriais. Os testes sorológicos são amplamente utilizados, sendo a detecção de anticorpos IgM indicativa de infecção recente, enquanto os testes de avidéz para IgG permitem diferenciar infecções agudas de crônicas.¹⁴

Embora diversos estudos enfatizem a importância da avaliação de corpos hídricos como potenciais veículos de transmissão de *T. gondii*,¹⁵ há escassez de relatos que explorem a água de retrolavagem de filtros como matriz diagnóstica.

A detecção de parasitos em amostras ambientais requer metodologias altamente sensíveis e específicas, como a PCR em tempo real (qPCR), que tem demonstrado elevada eficácia na identificação de *Toxoplasma gondii* em diferentes matrizes.⁸ Com o objetivo de implementar e fortalecer a vigilância em saúde pública, torna-se evidente a necessidade de desenvolver, padronizar e aprimorar métodos de detecção sensíveis e específicos, que possam ser aplicados a diferentes tipos de amostras,¹⁶ em contextos variados de

monitoramento e investigação epidemiológica. Aliado ao isolamento e à detecção das formas infectantes do parasito, os estudos voltados à avaliação da viabilidade dos oocistos detectados, por meio de técnicas de coloração ou abordagens baseadas em biologia molecular, constituem um dos principais desafios enfrentados pelos laboratórios de saúde pública.¹⁷

A análise laboratorial, incluindo as técnicas microscópicas e moleculares, foi capaz de identificar oocistos e DNA de *T. gondii* em amostras de água provenientes da retrolavagem de filtros, evidenciando a contaminação ambiental de água de abastecimento da instituição escolar.

Conclusão

Os resultados desta investigação destacaram a relevância da análise da água de retrolavagem dos filtros dos bebedouros como estratégia complementar de detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* e na elucidação da via de transmissão. Essa água, por concentrar os resíduos e contaminantes retidos no sistema de filtração, atua como um indicador eficaz da presença de microrganismos, incluindo protozoários, podendo ser considerada uma matriz sentinela. Embora não existam relatos anteriores na literatura de detecção de oocistos de *T. gondii* nesse tipo de amostra, os achados deste estudo reforçam a necessidade de adoção de medidas preventivas, como a manutenção e a higienização periódicas dos filtros.

A fim de mitigar os surtos de toxoplasmose, recomenda-se o monitoramento contínuo das fontes de água, a manutenção regular dos sistemas de filtração e a inclusão da água de retrolavagem como matriz complementar em protocolos de vigilância sanitária e epidemiológica, especialmente em ambientes frequentados por populações vulneráveis, mais suscetíveis a formas graves da infecção.

Ressalta-se, ainda, o papel estratégico de instituições públicas, como o Instituto Adolfo Lutz, no suporte técnico-científico às ações de vigilância em saúde, visando uma resposta eficaz e oportuna, capaz de colaborar com a proteção da saúde coletiva, em consonância com os princípios da abordagem de Saúde Única (One Health), que reconhece a interdependência entre os ecossistemas humano, animal e ambiental.¹⁸

Agradecimentos

Ao Sr. Antônio Roberto de Souza Ferreira, pelo apoio técnico à execução das análises microscópicas e moleculares.

Referências

1. Barros RAM, Torrecilhas AC, Marciano MAM, Mazuz ML, Pereira-Chioccolla VL, Fux B. Toxoplasmosis in human and animals around the world: diagnosis and perspectives in the One Health approach. Acta Trop. 2022 Jul;231:106432. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106432>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X22001309>
2. Rey L. Bases da parasitologia médica. In: Bases da parasitologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1992. (1) 349 p.
3. Moraes CFG, Saenz ECT. Toxoplasmose congênita. Atas Ciênc Saúde. 2022;10(4). Disponível em: <https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/2670>
4. Lopes-Mori FMR, Mitsuka-Breganó R, Capobiango JD, Inoue IT, Reiche EMV, Morimoto HK, et al. Programas de controle da toxoplasmose congênita. Rev Assoc Med Bras. 2011; 57(5):594-99. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-42302011000500021>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0104423011703943>
5. Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. 2ª ed. Boca Raton: CRC Press; 2016. DOI: <https://doi.org/10.1201/9781420092370>
6. Almeria S, Dubey JP. Foodborne transmission of *Toxoplasma gondii* infection in the last decade: an overview. Res Vet Sci. 2021;135:371-85. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.019>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33148402/>
7. Ministério da Saúde. Protocolos para investigação de *Toxoplasma gondii* em amostras ambientais e alimentares [Internet]. Brasília (DF):2020 [acesso em 17 maio 2025]. Disponível em: http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/protocolos_toxoplasma_amostras_ambientais_alimentares.pdf
8. Marciano MAM. Pesquisa de *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Toxoplasma gondii* e *Cyclospora cayetanensis* em água para consumo humano [tese de Doutorado]. São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo, 2019. DOI: <https://doi.org/10.11606/T.99.2019.tde-19122019-123455>. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-19122019-123455/>
9. Belaz S, Gangneux JP, Dupretz P, Guiguen C, Robert-Gangneux F. A 10 year retrospective comparison of two target sequences, REP529 and B1, for *Toxoplasma gondii* detection by quantitative PCR. J Clin Microbiol. 2015;53:1294-300. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.02900-14>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/jcm.02900-14>
10. Camilo LM, Pereira-Chioccolla VL, Gava R, Meira-Strejevitch CDS, Vidal JE, Mattos CCB, et al. Molecular diagnosis of symptomatic toxoplasmosis: a 9 year retrospective and prospective study in a referral laboratory in São Paulo, Brazil. Braz J Infect Dis. 2017; 21(6):638-47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.07.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867017304853>
11. Shapiro K, Bahia-Oliveira L, Dixon B, Dumètre A, de Wit LA, VanWormer E, Villena I. Environmental transmission of *Toxoplasma gondii*: Oocysts in water, soil and food. Food Waterborne Parasitol. 2019;15:e00049. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00049>

12. Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. Clin Microbiol Rev. 2012;25(2):264-96. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.05013-11>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/cmr.05013-11>
13. Ferreira FP, Caldart ET, Freire RL, Mitsuka-Breganó R, Freitas FM, Miura AC et al. The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. Rev Bras Parasitol Vet. 2018;27:327-37. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180050>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpv/a/yRdBsBh8PcpzfyDyrWXPB5g/abstract/?lang=pt&format=html>
14. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Brasília:2024 [acesso em 17 maio 2025]. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_6edrev_v1.pdf
15. Isaac-Renton JL, Bowie WR, King A, Irwin GS, Ong CS, Fung CP, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Appl Environ Microbiol. 1998;64(6):2278-80. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.64.6.2278-2280.1998>. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.64.6.2278-2280.1998>
16. Lass A, Pietkiewicz H, Modzelewska E, Dumètre A, Szostakowska B, Myjak P. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental soil samples using molecular methods. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009;28:599-605. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0681-5>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-008-0681-5>
17. Marciano MAM, Silva RA, Barbosa ML, Ferreira ARS, Pereira-Chioccolla VL. Determination of the viability of *Toxoplasma gondii* oocysts by PCR realtime after treatment with propidium monoazide. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2020 Oct 30;62:e84. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202062084>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/kHkRpTWxR8ZPJM9PBn9fXNp/?lang=en>
18. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), United Nations Environment Programme (UNEP), World Organisation for Animal Health (WOAH). One Health Joint Plan of Action (2022-2026). Working together for the health of humans, animals, plants and the environment. Rome:2022. DOI: <https://doi.org/10.4060/cc2289>. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240059139>

Contribuição dos autores

Laís Fernanda de Pauli-Yamada: análise e interpretação dos dados; desenvolvimento e redação do manuscrito. Páscoa Aparecida Bichiato: coleta, análise crítica e interpretação dos resultados; Ricardo Ramos Cabrera: coleta, análise crítica e interpretação dos resultados; Jessica Penatti: concepção e delineamento das análises laboratoriais; Ricardo Gava: concepção e delineamento das análises laboratoriais; Vera Lucia Pereira-Chioccola: análise dos dados e revisão crítica do manuscrito. Maria Aparecida Moraes Marciano: concepção e planejamento do estudo; análise e interpretação dos dados; redação e revisão crítica do manuscrito. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Preprint

O manuscrito não foi previamente publicado em servidores preprint.

Aprovação dos autores

Os autores participaram efetivamente do trabalho, aprovam a versão final do manuscrito para publicação e assumem total responsabilidade por todos os seus aspectos, garantindo que as informações sejam precisas e confiáveis.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesse de natureza política, comercial e financeira no manuscrito.

Financiamento

Os autores declaram que não houve fontes de financiamento.