

## LEVANTAMENTO DAS PRINCIPAIS LESÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DE GALINHAS DOMÉSTICAS NECROPSIADAS NO HOVET UFES/ALEGRE.

Rayssa Gomes de Paula, Jankerle Neves Boeloni.

Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Departamento de Medicina Veterinária, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, rayssa.gpaula04@gmail.com, jankerle@gmail.com.

### Resumo

Com a avicultura no auge da produção, surgiu maior interesse no campo científico em realizar pesquisas que envolvam a saúde, a nutrição e o bem-estar dessas aves. Nesse contexto, algumas enfermidades já registradas em estudos anteriores são de grande importância para a avicultura, como a doença de Newcastle, bronquite infecciosa, salmonelose, osteoporose, entre outras. O objetivo do presente estudo foi realizar o levantamento das principais alterações anatomopatológicas observadas em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) necropsiadas no Setor de Patologia Animal da UFES, Campus Alegre. Para isso foram coletados dados gerais sobre os animais, além de tecidos e parasitos durante o exame necroscópico para realização de exames laboratoriais. Como resultados observou-se lesões macroscópicas em sistema circulatório, osteomuscular, e principalmente digestório e respiratório, além de presença de helmintos e piolhos. Conclui-se que, com o presente estudo, as alterações do sistema digestório e respiratório foram as mais encontradas e geralmente ocasionadas por microrganismos e parasitos.

**Palavras-chave:** Alterações. Aves domésticas. Macroscopia. Microscopia.

**Área do Conhecimento:** Ciências da Saúde - Medicina Veterinária.

### Introdução

No Brasil, a avicultura industrial engloba tanto a criação de galinhas quanto de codornas, sendo direcionada para produção de ovos e de carne e possui grande destaque no mercado agropecuário (IBGE, 2020). Em 2022, constatou-se que os galináceos representavam o maior rebanho do Brasil, estimado em 259,4 milhões de galinhas, produzindo cerca de 4,8 bilhões de dúzias de ovos (IBGE, 2022). A região sudeste se destaca no cenário nacional de avicultura com mais de um terço de toda produção galinácea do país, totalizando 91,1 milhões de galinhas; e na criação de codornas, responsável por quase metade da produção de codornas nacional, equivalente a 7,7 milhões de codornas. No aspecto estadual, o Espírito Santo é o maior produtor de ovos de codorna (seguido por Minas Gerais e Ceará) e o sexto maior produtor de ovos de galinhas do Brasil (IBGE, 2022).

Entre as municipalidades do Brasil, desde 2016, Santa Maria de Jetibá (ES) lidera o *ranking* na criação de aves domésticas, tornando este município o maior produtor de ovos (IBGE, 2019; Safra ES, 2020). O aumento na criação de galinhas de postura foi consequência da alta eficiência destas aves, do seu crescimento rápido e precoce (Nascimento *et al.*, 2021), além da maior demanda por ovos em razão aos benefícios à saúde humana (Alagawany *et al.*, 2018). Com a avicultura no auge da produção, surgiu maior interesse no campo científico em realizar pesquisas que envolvam a saúde, a nutrição e o bem-estar dessas aves (Figuroa, 2016). Nesse contexto, algumas enfermidades já registradas em estudos anteriores são de grande importância para a avicultura, como a doença de Newcastle, bronquite infecciosa, salmonelose, osteoporose e raquitismo, dentre outras (Cardoso, Tessari, 2015). Considerando que o organismo é somático, determinada doença pode acometer direta ou indiretamente órgãos de diferentes sistemas, as enfermidades, além de afetarem o bem-estar animal, podem acarretar prejuízos econômicos significativos para o produtor (Bernardi, 2011; Souza *et al.*, 2017).

Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar o levantamento das principais alterações anatomopatológicas observadas em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) necropsiadas no Setor de Patologia Animal da UFES, Campus Alegre no período de setembro de 2023 a agosto 2024, para instigar o estudo das doenças das aves, conscientizando sobre a importância da investigação e

monitoramento de doenças, visto que existem zoonoses transmitidas por aves e que muitas doenças levam a queda de produção dos lotes.

## Metodologia

O estudo foi desenvolvido no setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES), campus Alegre, Espírito Santo, Brasil. O presente projeto apresenta aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob número de protocolo 014/2020 e segue todos os princípios éticos para experimentação animal. Para o desenvolvimento do presente estudo, foram utilizadas galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) provenientes de granjas comerciais ou de outras formas de produção e todos os dados referentes às aves foram coletados como tipo de criação e sinais clínicos.

Os dois animais foram mantidos congelados em câmara fria, necropsiados e todas as lesões macroscópicas foram descritas, sendo importante ressaltar que esse tempo de congelamento pode ter mascarado alguns achados macroscópicos devido a autólise, como por exemplo do sistema nervoso, mas as lesões dos demais locais não foram comprometidas. O exame necroscópico foi realizado com adaptação da metodologia de Lucio-Martinez e Korich (2010), sendo dividido em exames externo e interno.

As descrições das alterações macroscópicas seguiram as seguintes classificações: (a) local (órgão); (b) distribuição (focal, focalmente extensa, multifocal, multifocal a coalescente, difusa); (c) consistência (macio, firme, duro, friável); (d) coloração; (e) intensidade (discreto, moderado, intenso); (f) forma (amorfo, elevado, deprimido, plano, formas geométricas); (g) tamanho (em centímetros ou em relação ao normal [aumentado ou diminuído]); e (h) aspectos especiais (odor, som e peso).

Durante o exame necroscópico, os fragmentos teciduais com alterações foram coletados, fixados em formalina 10% tamponada, processados pelo método rotineiro de inclusão em parafina, realizados cortes de 4µm e corados pela técnica de hematoxilina e eosina. Em seguida, as lâminas foram visualizadas em microscopia óptica para descrição dos achados histopatológicos. Posteriormente, foi realizada a compilação dos dados macroscópicos e microscópicos obtidos e os mesmos foram apresentados em figuras ou tabelas.

Quanto identificação de ovos e oocistos de endoparasitos, foi utilizada uma adaptação da técnica de centrifugação flutuação simples - CFS segundo Sheather (1923). A técnica consiste na concentração de ovos, oocistos e cistos utilizando o princípio da flutuação em solução hipersaturada. Homogeneiza-se as fezes no próprio acondicionamento, coleta-se uma amostra de 2 g. Em um copo americano, mistura-se 15 ml de água destilada a amostra de fezes, realiza-se filtração do material em gaze com uma peneira para outro copo e transfere-se o material para um tubo de Falcon, que é levado à centrífuga a 2500 rpm por 10 minutos. Ao final, descartar o sobrenadante e acrescentar 10 ml de solução hipersaturada de açúcar ao tubo, ressuspendendo o sedimento e homogeneizando no próprio acondicionamento.

## Resultados

Foram recebidas duas aves da espécie *Gallus gallus domesticus* de diferentes propriedades e criações. A galinha 1 pertencia a uma criação/escola do IFES/Alegre-ES e foi encontrada morta em suas dependências, era macho e jovem adulto (a idade exata não foi possível de ser determinada) com 2,46 kg. A outra ave (galinha 2) advinha de criação extensiva em Manhauçu, era fêmea, da raça *Iza Brown* com 3 anos de idade, de aproximadamente 2,5 kg, foi eutanasiada com a seguinte história clínica: animal não realizava postura há 1 ano e meio e apresentava quadro de alteração em olho esquerdo, cegueira e presença de nódulo periorbital brancacento. Além disso, manifestou sinais clínicos de prostração, crista e barbela pálida, caquexia, descamação em crista e patas e presença de ectoparasitas e o tutor administrou tilosina como medicação.

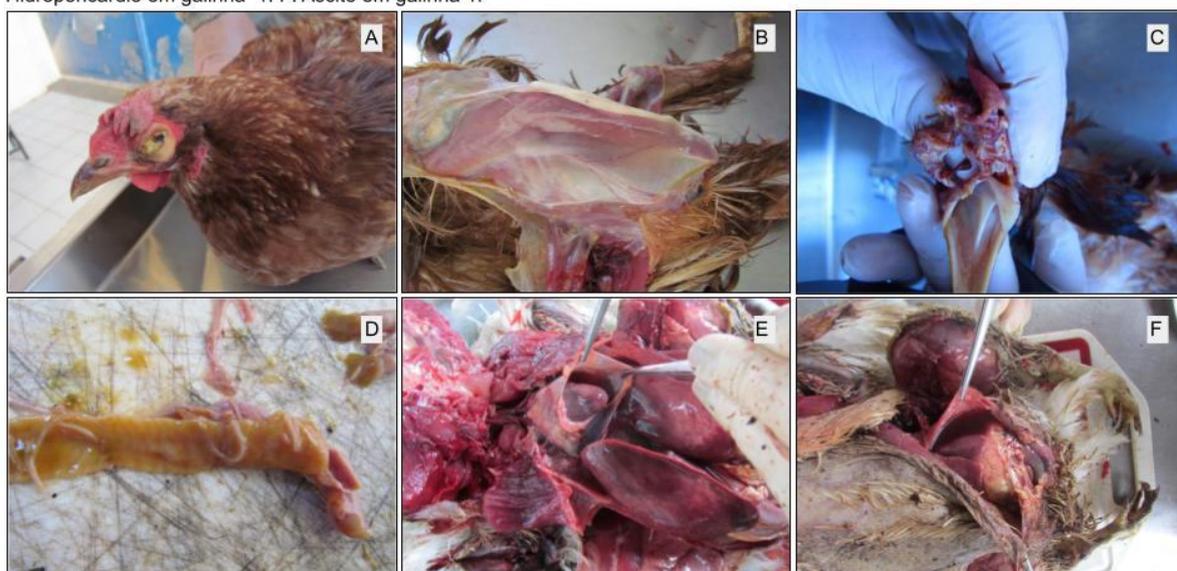
No exame necroscópico da galinha 1, foram observadas as seguintes alterações em exame externo: (1) escore de condição corporal 3/5; (2) secreção serosanguinolenta em face lateral direita, cervical e torácica ventrais e (3) aumento de volume com balotamento em região abdominal. Durante o exame interno foram detectados: (1) hidropericárdio intenso (Figura 1), (2) coração aumentado de volume e intensa quantidade de coágulo nos átrios (considerado anormal no átrio esquerdo), (3) pulmão

aumentado de volume e intensamente congesto de forma difusa, (5) traqueia com mucosa intensamente congesta de forma difusa e (6) ascite intensa (serosa) (Figura 1). Sendo importante citar que não foram coletados materiais para exame histopatológico.

Em exame necroscópico da galinha 2, o exame externo revelou: (1) escore de condição corporal 2/5, (2) aumento ocular esquerdo, (3) barbela caída, (4) aumento de volume em região periocular esquerda com exsudato caseoso difuso severo (Figura 1), (5) ectoparasitos (piolhos) em intensa quantidade. O exame interno apresentou: (1) seios nasais do lado direito com secreção mucopurulenta moderada, (2) seios nasais do lado esquerdo com secreção caseosa moderada (Figura 1), (3) hipotrofia de musculatura peitoral difusa intensa associado a tortuosidade de quilha (Figura 1), (4) sacos aéreos caudais moderadamente turvos e amarelados, (5) fígado discretamente diminuído de volume, (6) baço discretamente diminuído de volume, (7) bile discretamente espessada, (8) intestinos discretamente friáveis de forma difusa, (9) hipotrofia ovariana difusa intensa, (10) rins difusamente congestos de forma moderada, (11) intestino delgado com parede moderadamente espessada e (12) parasitos multifocais no lúmen de intestino delgado sugestivos de *Ascaridia* sp. em moderada quantidade (Figura 1) e (13) mucosa do reto com áreas vermelhas multifocais de forma moderada. Sendo importante citar que foram coletados os seguintes órgãos para exame histopatológico: cérebro, pulmão, fígado, coração, intestino delgado, ovário, baço, traqueia, faringe/laringe, rim e olho.

Foram requisitados exames laboratoriais durante a necropsia da galinha 2. Ecto e endoparasitos foram enviados para exame parasitológico, que concluíram presença de piolhos do gênero *Menacanthus* sp. e intensa quantidade de coccídeos, *Capillaria* sp. e ascarídeos nas fezes. Com relação aos achados microscópicos na galinha 2 foram encontrados principalmente: cérebro, coração e rim com congestão; pulmão com congestão e hemorragia; fígado com congestão, bilestase e degeneração macrovacuolar de hepatócitos; hipotrofia ovariana; baço com congestão e hemossiderose; traqueia e faringe com infiltrado inflamatório linfocitário; e conjutiva ocular com infiltrado inflamatório linfocitário em submucosa.

Figura 1 - A: Lesão ocular com secreção caseosa em galinha 2. B: Tortuosidade de quilha e hipotrofia muscular em galinha 2. C: Seios nasais com secreção mucopurulenta a caseosa em galinha 2. D: Estruturas parasitárias em intestino delgado em galinha 2. E: Hidropericárdio em galinha 1. F: Ascite em galinha 1.



Fonte: Laboratório de Patologia Animal UFES-Alegre/ES.

## Discussão

No presente estudo foram observados na galinha 1, edemas como hidropericárdio e ascite. Neste sentido, o hidropericárdio geralmente está associado a uma ascite e parada cardíaca, entretanto pode ser encontrado na hepatite por corpúsculo de inclusão (ou síndrome hepatite-hidropericárdio) causada pelo adenovírus aviário (FAdV) (Majó; Dolz, 2019). Essa condição patológica acomete frangos de corte

juvencos, entre 3 a 5 semanas, e apresenta-se por núcleos dos hepatócitos difusamente aumentados e preenchidos por corpúsculos de inclusão basofílicos (Cunha *et al.*, 2023), porém não foi observado no presente estudo. Ainda, o hidropericárdio pode estar associado à ascite em um quadro de síndrome da hipertensão pulmonar (Majó; Dolz, 2019). Em experimento pela Embrapa foram utilizados frangos de diferentes linhagens sob a mesma dieta para observar peso médio corporal, consumo de ração, conversão alimentar, taxa de mortalidade e incidência de síndrome ascítica. O experimento resultou em maior taxa de incidência da ascite e apresentação de maior número de lesões cardíacas e hidropericárdio em machos, além de uma taxa de mortalidade 52,24% maior do que as fêmeas (Neto, Campos, 2004), esses resultados estão de acordo com os resultados encontrados neste presente trabalho.

A ascite ou síndrome da hipertensão pulmonar, é caracterizada por acúmulo de líquido na cavidade celomática. É uma condição multifatorial, no entanto, uma das principais causas dessa lesão em aves é a insuficiência cardiorrespiratória, geralmente ocasionada por uma sobrecarga fisiológica e metabólica, comum a linhagens de genética melhorada que passam por processos de ganho de peso acelerado. Clinicamente, essa condição se apresenta por abdômen abaulado, hipertensão pulmonar, baixo débito cardíaco e congestão (Jaenisch *et al.*, 2001; Ecco; Braga, 2017).

Foram observadas na galinha 2, aumento ocular esquerdo associado a secreção caseosa, barbela caída, edemaciação de região periocular esquerda com exsudato caseoso, seios nasais do lado direito com secreção mucopurulenta e lado esquerdo com secreção caseosa, lesões em região ocular caracterizadas por edemaciação, secreção amarelada e viscosa (caseosa), aumento de volume de seios nasais com exsudato caseoso e edema em barbela caracterizam um quadro de sinusite e conjuntivite caseosa, geralmente em sua fase aguda ou subaguda, muito comuns em aves infectadas por *Haemophilus paragallinarum*, causador da coriza infecciosa (Ecco; Braga, 2017). Entretanto, as doenças de sistema respiratório possuem sintomas inespecíficos e multifatoriais, necessitando exames laboratoriais como microbiológico em caso de bactérias e PCR em caso de vírus, para chegar a um diagnóstico conclusivo. Aspergilose, avitaminose A, cólera aviária, colibacilose, influenza aviária, micoplasmose (DCR), Síndrome da Cabeça Inclinada (SCI) estão entre os principais diagnósticos diferenciais para a coriza infecciosa (Santos, 2018).

Encontrou-se também, hipotrofia de musculatura peitoral associada a tortuosidade de quilha. O esterno das aves é chamado de quilha e apresenta modificação que se expressa em um prolongamento ventral para acomodar o músculo peitoral. Essa característica consiste em uma adaptação anatômica para auxiliar o voo, quanto mais desenvolvida a quilha for, mais adaptada ao voo é a ave. Alterações neste osso, como desvio ou tortuosidade tem relação direta com o estado de saúde do animal, revelando uma deficiência mineral, geralmente interligada ao manejo nutricional incorreto e a presença de parasitismo intenso que impede a absorção dos nutrientes no intestino por sua ação espoliadora e permite entrada de patógenos por meio de traumas na mucosa (Romão, 2011; Coelho, 2018; Lovato *et al.*, 2018).

No intestino delgado foi visualizada parede espessada, parasitos multifocais no lúmen intestinal sugestivos de *Ascaridia* sp. e mucosa do reto com áreas vermelhas. Os ascarídeos de aves são parasitos cilíndricos, brancos a amarelados e com as extremidades pontiagudas que acometem o intestino delgado de galinhas, perus, faisões, papagaios e angolas. Os ovos são eliminados nas fezes, ao alcançar fase larvar infectante é ingerido por aves, migrando para a mucosa entérica. A mortalidade está presente em aves jovens, juntamente com apatia, emagrecimento, prostração e anemia. Aves adultas geralmente não apresentam manifestações clínicas (Lovato *et al.*, 2018).

A *Capillaria* sp. é um parasito cilíndrico e fino que parasita intestino de aves como galinhas, perus, pombos, angolas, faisões, gansos, marrecos, papagaios, araras, periquitos australianos e canários. Os animais se contaminam por ingestão do parasito presente nas fezes de animais infectados. Animais jovens apresentam depressão, anorexia, regurgitação, diarreia, palidez de crista e barbela, emagrecimento e caquexia. Ainda, as poedeiras apresentam gemas claras e redução da postura. As medidas de prevenção envolvem limpeza do *habitat* e eliminação de possíveis vetores (Lovato *et al.*, 2018).

Foi encontrada também hipotrofia ovariana difusa intensa. No presente relato provavelmente esse achado foi relacionado a inanição ou subnutrição. Sesti e Ito (2009) também observaram hipotrofia ovariana relacionada a baixa nutrição, geralmente associada à quadros infecciosos bacterianos como coriza infecciosa e bronquite infecciosa, neoplasias como linfoma por doença de Marek ou à falha no

manejo. As septicemias normalmente ocasionam uma restrição de consumo devido à rejeição da ração por fatores tóxicos, diminuindo a disponibilidade de nutrientes no organismo e, conseqüentemente, influenciando o funcionamento dos órgãos e o escore corporal do animal (Sesti, Ito, 2009).

## Conclusão

Conclui-se com o presente estudo que as lesões mais encontradas acometiam o sistema digestório, em especial os intestinos apresentando alterações na parede e mucosa como espessamento, coloração avermelhada, presença de parasitos cilíndricos, e ainda ascite na região abdominal. Além disso, foi observado alterações no sistema respiratório, principalmente em órgãos da porção superior como seios nasais, traqueia, laringe e faringe. Além disso, observou-se importantes lesões oculares imprescindíveis para a identificação de doenças, já que esta alteração é um sinal clínico que ajuda a caracterizar algumas afecções respiratórias. E ainda, observou-se a ocorrência de parasitos intestinais.

## Referências

- ALAGAWANY, M. *et al.* Nutritional significance and health benefits of designer eggs. **World is Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 74, n. 2, p. 317-330, 2018. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/abs/nutritional-significance-and-health-benefits-of-designer-eggs/36F4FCDF5D12B4DBD207EB2ED47BE65>. Acesso em: 11 ago. 2024.
- BERNARDI, R. **Problemas locomotores em frangos de corte**. 2011. 62 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal da Grande Dourados, 2011.
- CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. **Principais doenças que acometem as aves**. Disponível em: <http://repositoriobiologico.com.br/jspui/handle/123456789/219>. Acesso em: 9 ago. 2024.
- COELHO, H. E.; OLIVEIRA, C. E. Sistema respiratório. *In*: COELHO, H.E. **Patologia das aves**. 2. ed. Lexington: Kindle Direct Publishing, 2018.
- CUNHA, A. L. O. *et al.* Adenovírus Aviário FAdV-D11 Como Agente Causador De Hepatite por Corpúsculo de Inclusão em Matrizes de Frango de Corte em Santa Catarina. *In*: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 33o, 2023, Florianópolis. **Projeto “Doenças virais emergentes em matrizes e frangos de corte no sul do estado de Santa Catarina”**. Florianópolis: Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, 2023. p. 1-2.
- ECCO, R.; BRAGA J. F. V. **Cadernos de Veterinária e Zootecnia Universidade Federal de Minas Gerais**. Disponível em: <https://vet.ufmg.br/ARQUIVOS/FCK/file/editora/cteletronico%2086%20ok.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2024.
- FIGUEROA, C. D. N. **Desenvolvimento dos músculos do peito e dos ossos do membro pélvico em codornas europeias e japonesas**. 2016. 112 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, 2016.
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2019**. Produção da Pecuária Municipal, v. 47, p.1-8, 2019. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2019\\_v47\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2019_v47_br_informativo.pdf). Acesso em: 10 ago. 2024.
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2020**. Produção da Pecuária Municipal, v. 48, p.1-12, 2020. Disponível em: [https://www.sna.agr.br/wp-content/uploads/2021/09/ppm\\_2020\\_v48\\_br\\_informativo.pdf](https://www.sna.agr.br/wp-content/uploads/2021/09/ppm_2020_v48_br_informativo.pdf). Acesso em: 11 ago. 2024.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. **Pesquisa da Pecuária Municipal 2022**. Produção da Pecuária Municipal, v. 50, p. 1-12, 2022. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2022\\_v50\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2022_v50_br_informativo.pdf). Acesso em: 9 ago. 2024.

JAENISCH, F. R. F. *et al.* Síndrome da Hipertensão Pulmonar: a Ascite em Frangos de Corte. **Circular Técnica**, n. 27, p. 1-4, 2001. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/57929/1/CUsersPiazzonDocumentsCIT-27.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2024.

LOVATO, M. *et al.* Doenças parasitárias. *In*: SANTOS, H. F.; LOVATO, M. **Doenças das aves**. 1. ed. Lexington: Kindle Direct Publishing, 2018.

MAJÓ, N; DOLZ, R. **Atlas of avian necropsy: Macroscopic Diagnosis Sampling**. Zaragoza: SERVET, p. 113-117, 2019.

NASCIMENTO, J. G. *et al.* Criação de codornas para corte. **Coleção Emater (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural) -DF**, v. 1, n. 29, 2021. Disponível em: [http://biblioteca.emater.df.gov.br/jspui/bitstream/123456789/153/1/Criacao\\_de\\_codornas\\_para\\_corte\\_versao\\_final.pdf](http://biblioteca.emater.df.gov.br/jspui/bitstream/123456789/153/1/Criacao_de_codornas_para_corte_versao_final.pdf). Acesso em: 15 set. 2024.

NETO, M. G.; CAMPOS, E. J. Suscetibilidade de linhagens de frangos de corte à síndrome ascítica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 803-808, 2004. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/6841/3897>. Acesso em: 16 set. 2024

ROMÃO, R. **Osteologia das aves**. Disponível em: <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/10410/1/Osteologia%20das%20aves%2C%20Rom%203%20A3o%202011.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2024.

SAFRA ES. **Espírito Santo se torna o maior produtor de ovos de codorna do Brasil**. Conexão Safra, 2020. Disponível em: <https://conexaosafra.com/pecuaria/espírito-santo-torna-maior-produtor-ovos-codorna-brasil/>. Acesso em: 12 ago. 2024.

SANTOS, H. F. Doenças virais. *In*: SANTOS, H. F.; LOVATO, M. **Doenças das aves**. 1. ed. Lexington: Kindle Direct Publishing, 2018.

SESTI, L.; ITO, N. M. K. Fisiopatologia do sistema reprodutor. *In*: BERCHIERI, A. Jr. *et al.* **Doenças das aves**. 2. ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola, p. 471-567, 2009.

SOUZA, C. S. *et al.* Cálcio e fósforo na nutrição de codornas japonesas em postura. **Science and Animal Health**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 260-281, 2017. Disponível em: <https://pe.riodicos.ufpel.edu.br/index.php/veterinaria/article/view/9166>. Acesso em: 12 ago. 2024.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com bolsa proveniente da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES).