

Avaliação da qualidade microbiológica de fórmulas infantis desidratadas após reconstituição e durante o armazenamento no lactário de um Hospital Universitário

Microbiological quality evaluation of dehydrated infant formulas after reconstitution and during storage in the lactary of a University Hospital

Thamires Chrispim de Souza
Carvalho Giangiarulo^I 

Maria Thereza R. P. Dias
de Lima^{II} 

Alfredo da Silva Martins^{III} 

Mara Lucia Penna Queiroz^{III} 

Roberta Fontanive Miyahira^{I,*} 

RESUMO

Introdução: As fórmulas infantis (FI) não conseguem reproduzir as propriedades imunológicas e de digestibilidade do leite materno, entretanto conseguem atender às necessidades nutricionais estimadas quando há impedimento do aleitamento materno. Por ser rico em nutrientes, o leite artificial é um ambiente propício para o crescimento de microrganismos. **Objetivo:** Realizar análise microbiológica de FI destinadas a bebês preparadas no lactário de um Hospital Universitário do Rio de Janeiro, após reconstituição e armazenamento. **Método:** Foram coletadas 60 amostras de FI reconstituídas em lactário, logo após o preparo (tempo 0 h) e depois de 18 h de armazenamento sob refrigeração (< 5°C), em dois plantões diferentes A e B. Foi realizada a técnica do Número mais Provável (NMP) para o crescimento de coliformes a 35°C e a 45°C, contagem em placa de *Bacillus cereus* e *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP) e análise qualitativa de presença de *Salmonella* spp. **Resultados:** As FI apresentaram valores de coliformes com crescimento a 35°C < 0,3 NMP/mL e de *B. cereus* e SCP < 1 Unidade Formadora de Colônia (UFC)/mL, além de ausência de *Salmonella* spp./25 mL, nos dois momentos estudados. **Conclusões:** Não houve crescimento dos microrganismos analisados em 100% das amostras, provavelmente devido ao treinamento adequado dos manipuladores de alimentos do lactário do hospital estudado.

PALAVRAS-CHAVE: Fórmulas Infantis; Lactário; Análise Microbiológica; Controle de Qualidade

ABSTRACT

Introduction: Infant formulas (IF) fail to reproduce the immunological and digestibility properties of breast milk; however, they can meet the estimated nutritional needs when breastfeeding is prevented. Being rich in nutrients, artificial milk is an environment conducive to the growth of microorganisms. **Objective:** To perform microbiological analysis of IF intended for infants prepared in the lactary of a University Hospital of Rio de Janeiro, after reconstitution and storage. **Method:** 60 samples of IF reconstituted lactary were collected, immediately after preparation (time 0 h) and after 18 h storage under refrigeration (< 5°C), in two different shifts A and B. The Most Probable Number (MPN) for coliform growth at 35°C and 45°C and Plate Count of *Bacillus cereus* were calculated, and coagulase positive *Staphylococcus* (SCP) and qualitative analysis of the presence of *Salmonella* spp. were performed. **Results:** IF showed values of coliforms with growth at 35°C < 0.3 MPN /mL and *B. cereus* and SCP < 1 Colony Forming Unit (CFU)/mL, in addition to absence of *Salmonella* spp./25 mL at both times studied. **Conclusions:** There was no growth of the analyzed microorganisms in 100% of the samples, probably due to the adequate training of the food handlers of the studied hospital.

^I Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{II} Hospital Universitário Pedro Ernesto, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{III} Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: robertamiyahira@gmail.com

Recebido: 07 ago 2019

Aprovado: 11 dez 2019

KEYWORDS: Infant Formulas; Lactary; Microbiological Analysis; Quality Control



INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a amamentação exclusiva durante os seis primeiros meses de vida e, a partir dessa idade, introdução de alimentos locais e ricos em nutrientes como complementação e a manutenção da amamentação até dois anos de idade ou mais¹. O aleitamento materno, entretanto, pode ser impedido por situações temporárias ou permanentes, tais como em algumas doenças infecciosas (varicela, herpes com lesões mamárias, tuberculose não tratada, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana), bem como pelo uso de medicamentos passíveis de liberação pelo epitélio alveolar mamário que sejam nocivos ao bebê. Outros fatores são devido à ocorrência de doenças metabólicas raras do bebê como a fenilcetonúria e a galactosemia².

As fórmulas infantis (FI) não conseguem reproduzir as propriedades imunológicas e de digestibilidade do leite materno, entretanto elas atendem às necessidades nutricionais estimadas, segundo *Codex Alimentarius*³. Por isso, mesmo não substituindo os benefícios do aleitamento materno, as FI podem ser uma boa alternativa quando há impedimento deste⁴.

De acordo com o inciso I do artigo 6º da Resolução RDC nº 43, de 1º de setembro de 2011⁵, FI para lactentes é o produto, em forma líquida ou em pó, utilizado sob prescrição, especialmente fabricado para satisfazer, por si só, as necessidades nutricionais dos lactentes sadios durante os primeiros seis meses de vida. No hospital, essas fórmulas são geralmente preparadas no lactário, unidade destinada ao preparo, higienização e distribuição das mamadeiras com leite e seus substitutos para alimentação de recém-nascidos e dos pacientes da pediatria⁶.

As FI em pó à base de leite também têm sido relacionadas com surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), ocorridos principalmente em ambiente hospitalar, onde esse tipo de alimento é frequentemente administrado às crianças internadas⁷. Ao ponderar sobre a segurança microbiológica das FI é importante salientar que o leite de vaca, componente base da maior parte delas, possui características que permitem que seja um excelente meio de cultura para a multiplicação de microrganismos, principalmente devido à presença de gorduras emulsificadas, às concentrações fisiológicas de proteínas, ao conteúdo de sais e açúcares, além de pH em torno de 6,8⁸.

As principais alterações microbiológicas relacionadas com leite em pó e produtos derivados, como as FI em pó, ocorrem devido à contaminação acidental durante ou após a reconstituição do produto⁹. Um dos fatores geralmente associados à contaminação é o processo de manipulação, ou seja, diluição destas formulações em ambientes inadequados assim como processos não validados e controlados⁷.

As DTA afetam o bem-estar e a saúde de muitos indivíduos, apresentando maior severidade em pessoas debilitadas, notadamente as crianças hospitalizadas¹⁰. Uma das mais frequentes fontes exógenas responsáveis por surtos epidêmicos em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) neonatal inclui as FI à base de leite¹¹. A inadequada preparação e manipulação das FI reconstituídas proporcionam

condições ideais para a multiplicação de microrganismos patogênicos, o que aumenta substancialmente o risco de DTA. Contudo, o risco de doença pode ser reduzido se forem utilizadas boas práticas na preparação e manipulação das FI¹².

Considerando os múltiplos fatores que podem levar a alterações nos padrões microbiológicos das FI reconstituídas em lactário, como os higienicossanitários e o período de armazenamento, além da relevância do impacto da alimentação na vida do bebê hospitalizado, a investigação da qualidade microbiológica desse alimento, após o processo de manipulação e armazenamento, torna-se necessária para minimizar esses riscos e garantir a qualidade do produto.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi realizar análise microbiológica de fórmulas infantis destinadas a bebês preparadas no lactário de um Hospital Universitário no município do Rio de Janeiro, após reconstituição e armazenamento.

MÉTODO

Foram coletadas 60 amostras, durante 15 semanas (de abril a agosto de 2018), de FI destinadas a bebês, reconstituídas no lactário de um Hospital Universitário localizado no município do Rio de Janeiro.

As coletas e análises foram realizadas quatro vezes por semana - em plantões diferentes A e B -, após os processos de preparo das FI (tempo 0 h) e após o armazenamento de 18 h em refrigerador do setor (tempo 18 h), sendo que elas foram transportadas sob refrigeração (< 5°C) e imediatamente processadas no Laboratório de Bacteriologia Clínica (LABAC).

Detecção de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada pelo método cultural clássico de presença/ausência. Este método qualitativo consistiu em três etapas, pré-enriquecimento em água peptonada a 1% (Peptona bacteriológica - OXOID, LTD., Basingstoke, Hampshire, Inglaterra), enriquecimento seletivo em caldo Rapaport Vassiliadis (OXOID) e plaqueamento seletivo diferencial em ágar XLD (OXOID) para detecção de colônias típicas. A cepa *S. Typhimurium* ATCC 14028 e a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 foram usadas como controle positivo e negativo do teste, respectivamente.

Foi realizado o pré-enriquecimento de 25 mL da amostra em 225 mL de água peptonada tamponada a 1% (OXOID) a 35 ± 2°C/24 h. Após, alíquotas da cultura pré-enriquecida foram inoculadas em caldo Rapaport Vassiliadis (OXOID) seguido de incubação a 42°C-43°C/18 a 24 h. Uma alçada deste caldo foi estriada em Agar XLD (OXOID) e incubado a 35 ± 2°C/18 a 24 h.

Determinação de coliformes a 35°C

A determinação de coliformes a 35°C foi realizada por meio da Técnica do Número mais Provável (NMP). O ensaio foi realizado



em três séries de três tubos cada (3 x 3) contendo Caldo Lauril Sulfato (OXOID) com tubos de Durhan invertidos. Foram medidos 25 mL de unidade analítica de cada amostra e homogeneizados em 225 mL de água peptonada a 0,1% (OXOID). As diluições utilizadas foram 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} . Foi considerado como tubo positivo aquele que apresentou turvação e produção de gás. A cepa *E. coli* ATCC 25922 e a cepa *Bacillus cereus* ATCC 14579 foram usadas como controle positivo e negativo do teste, respectivamente.

Determinação de *B. cereus*

A determinação de *B. cereus* foi realizada pelo método de Contagem em Placa por Plaqueamento em Superfície. Foram transferidos 100 μ L (0,1 mL) da diluição 10^0 para a superfície de ágar MYP (OXOID). As placas foram incubadas invertidas a 37°C por 24 h a 48 h. A cepa *B. cereus* ATCC 14579 e a cepa *E. coli* ATCC 25922 foram usadas como controle positivo e negativo do teste, respectivamente.

Determinação de *Staphylococcus coagulase-positiva* (SCP)

A determinação de SCP foi realizada pelo método de Contagem em Placa por Plaqueamento em Superfície. Foram transferidos 100 μ L (0,1 mL) da diluição 10^0 para a superfície de Agar Vogel Jonhson (OXOID). As placas foram incubadas invertidas a 37°C por 24 h a 48 h. As colônias presuntivas foram submetidas ao teste da coagulase. Uma alíquota de cultura recente com o auxílio de alça bacteriológica esterilizada foi inoculada em 0,5 mL de plasma de coelho e incubada em banho-maria a 35°C \pm 2°C. A leitura foi feita após 4 h de incubação. Os casos negativos foram reavaliados em 24 h de incubação. As cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 foram usadas como controle positivo e controle negativo, respectivamente.

As análises quantitativas e qualitativas foram feitas seguindo o protocolo da *American Public Health Association*¹³. Os resultados foram descritos em percentuais e comparados com os padrões estabelecidos pela legislação vigente¹⁴.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise microbiológica demonstraram que os microrganismos estudados não foram detectados em 100% das amostras, logo após a reconstituição (tempo 0 h) e após 18 h de armazenamento das preparações. Ressaltamos ainda que não houve crescimento de colônias características no ensaio de determinação de *B. cereus* e nem crescimento no Caldo Lauril Sulfato no ensaio de determinação de coliformes a 35°C.

A RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012¹⁵, baseada nas recomendações do guia da OMS¹², estabelece que, quando for necessário o preparo com antecedência, a FI reconstituída deve ser refrigerada à temperatura menor do que 5°C, por no máximo 24 h. No lactário, do presente estudo, as FI eram armazenadas, no máximo, por 18 h e por esse motivo, foram analisadas no tempo 0 e no tempo 18 h, a fim de avaliar o crescimento de microrganismos durante esse período. O refrigerador utilizado para armazenamento era

mantido em temperaturas inferiores a 5°C e monitorado duas vezes por dia. Os manipuladores recebiam regularmente treinamento sobre paramentação e higienização das mãos e bancadas onde ocorria a reconstituição, o que contribuiu para a adequação das FI. Além disso, as fórmulas eram reconstituídas manualmente com o auxílio de utensílios de fácil higienização.

Horita et al.¹⁶, em trabalho realizado com lactários de seis unidades hospitalares, também obtiveram 100% de suas amostras, no que diz respeito a coliformes a 35°C, em consonância com a RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001¹⁴. Porém, esse resultado destoa dos achados de Rossi et al.¹⁷, que ao analisarem 30 amostras de FI reconstituídas e armazenadas sob refrigeração por até 24 h no lactário de um Hospital público, evidenciaram elevada estimativa de coliformes a 35°C. Isso pode ser explicado pelo fato de, no estudo desse grupo, as FI terem sido processadas em liquidificador, que foi considerado um equipamento que pode apresentar carga microbiana elevada.

No que diz respeito à contaminação advinda do uso de equipamentos, Miyahira et al.¹⁸, em pesquisa conduzida em um Hospital Universitário do Rio de Janeiro, constataram que o liquidificador e a batedeira utilizados no preparo de alimentos eram veículos de contaminação por *Staphylococcus* spp. Tal resultado reforça a importância da correta higienização dos utensílios e equipamentos antes dos processos produtivos.

No Lactário do Hospital Universitário do Sul de Minas Gerais, Momesso et al.¹⁹ analisaram 16 amostras de FI, e os utensílios que eram utilizados na sua reconstituição. Apesar de o liquidificador e a colher terem apresentado carga microbiana elevada, todas as fórmulas estavam próprias para o consumo. Maurício et al.²⁰ utilizaram 21 amostras de FI para pesquisa da qualidade microbiológica, e constataram que 19% delas estavam impróprias para o consumo humano, devido ao crescimento de coliformes a 35°C acima do máximo permitido pela legislação vigente (RDC nº 12/2001¹³). A presença de coliformes totais em número elevado é um indicativo de que as condições de preparo, armazenamento e as instalações se encontram em condições sanitárias inadequadas²¹.

Em trabalho publicado em 2014, Reginato et al.²², ao investigarem o crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e SCP, observaram que 53,8% (n = 26) das FI analisadas estavam impróprias para o consumo. Ao conduzirem uma pesquisa em lactário hospitalar, Guerra et al.²³ não encontraram contaminação por *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas (n = 8). Porém, esses resultados não caracterizam as FI em questão, próprias para o consumo, visto que outras bactérias potencialmente patogênicas, como SCP e *B. cereus*, foram encontradas em 25% das amostras.

Ao analisarem 90 amostras de FI reconstituídas no Hospital Universitário Pedro Ernesto, no município do Rio de Janeiro, em dois plantões de manipuladores (A e B), Carneiro et al.²⁴ puderam constatar diferença de contaminação entre os dois plantões. Contagem de coliformes a 35°C > 10 NMP/mL foi observada em 64,4% (n = 29) das FI reconstituídas pelo plantão A, enquanto no plantão B o crescimento se mostrou de acordo com o previsto pela legislação.



Salles e Goulart²⁵, em um estudo realizado em dois lactários hospitalares (A e B), avaliaram as condições microbiológicas de FI reconstituídas e das mãos dos manipuladores, e constataram que 58,3% e 50,0% das preparações lácteas dos lactários A e B, respectivamente, estavam impróprias para o consumo.

A literatura descreve a relação direta entre a contaminação dos alimentos e o treinamento de manipuladores²⁶. Uma pesquisa implementada no Canadá demonstrou que o conhecimento de manipuladores de alimentos sobre o conceito de alimento seguro era maior quando os manipuladores recebiam treinamento específico²⁷.

Ressaltamos que a periodicidade da supervisão e o treinamento constante sobre temas relacionados às Boas Práticas dos Lactaristas do nosso estudo podem ter influenciado na qualidade microbiológica das FI. Além disso, o setor apresentava baixa rotatividade de pessoal o que favorece a formação de uma equipe especializada. Por fim, a água utilizada para a reconstituição das FI era filtrada e fervida. O setor de controle de qualidade do hospital realizava periodicamente análise microbiológica da água.

Em decorrência da sua composição, as FI são um bom meio de cultura para o crescimento de microrganismos. A revisão dos padrões microbiológicos existentes na legislação vigente,

prevista pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, por meio da Consulta Pública nº 542 de 2018²⁸, torna-se fundamental para garantir a qualidade microbiológica das FI. Devido às condições imunológicas dos neonatos hospitalizados, as infecções oportunistas tornam-se frequentes. Desse modo, o controle higienicossanitário deve se dar de forma ativa nos lactários, a fim de evitar essas consequências.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que não houve crescimento dos microrganismos pesquisados em 100% das amostras analisadas, tanto no momento da preparação, quanto após as 18 h de armazenamento em refrigerador, conferindo um risco microbiológico a menos aos bebês.

O treinamento e a supervisão dos lactaristas são de extrema importância para o controle higienicossanitário do processo produtivo, o que contribui para a qualidade microbiológica do produto final.

Além disso, a literatura científica demonstra que a higienização dos equipamentos usados durante a reconstituição das fórmulas infantis tem relação direta com a contaminação dos alimentos.

REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial da Saúde - OMS. Estratégia global de alimentação de bebês e crianças pequenas. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2001.
2. Levy L, Bértolo H. Manual de aleitamento materno. Lisboa: Unicef; 2008.
3. Codex Alimentarius Commission - CAC. Code of hygienic practice for powdered formulae for infants and young children. Rome: Codex Alimentarius Commission; 2008.
4. International Formula Council - IFC. In response to the resolution on infant and young child nutrition adopted by the 58th world health assembly. Atlanta: International Formula Council; 2005.
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC Nº 43, de 1 de setembro de 2011. Dispõe sobre a prestação de serviços de alimentação em eventos de massa. Diário Oficial União. 2 set 2011.
6. Mezomo IF. Serviço de nutrição e dietética. São Paulo: União Social Camiliana; 1987.
7. Pereira A, Boucinhas AS, Nasser EM, Silva JF, Peixoto JCMS, Jandre MC. Avaliação microbiológica de fórmulas infantis manipuladas em unidade centralizada de produção. *Segur Aliment Nutr.* 2013;20(2):260-74. <https://doi.org/10.20396/san.v20i2.8634602>
8. Ferferbaum R, Falcão MC. Nutrição do recém-nascido. São Paulo: Atheneu; 2005.
9. International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF. Microorganisms in food volume 6. Maryland: Aspen Publishers; 2000.
10. Correia MITD, Novais JAV, Cassiano MC. Controle de infecção na terapia nutricional enteral e parenteral. In: Oliveira AC. Infecções hospitalares: epidemiologia, prevenção e controle. São Paulo: Medsi; 2005. p. 562-73.
11. Secretaria do Estado de Saúde de São Paulo - SES-SP. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos. São Paulo: Secretaria do Estado de Saúde de São Paulo; 2002.
12. Organização Mundial da Saúde - OMS. Preparação, manipulação e conservação de fórmulas desidratadas para lactentes. Rio de Janeiro: Organização Mundial da Saúde; 2007.
13. American Public Health Association - APHA. Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed. Washington: American Public Health Association; 1992.
14. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial União. 10 jan 2001.
15. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC Nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre informação nutricional complementar. Diário Oficial União. 13 nov 2012.
16. Horita HC, Bueno GM, Cardozo Q, Imazaki FT, Nascimento MS, Okazaki MM. Avaliação microbiológica de formulações lácteas infantis preparadas em lactários hospitalares do município de Campinas (SP) e região. In: 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas; 2014.



17. Rossi P, Kabuki DY, Kuaye AY. Avaliação microbiológica do preparo de fórmula láctea infantil em lactário hospitalar. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(4):503-9.
18. Miyahira RF, Santos EA, Leão RS, Queiroz ML, Freitas-Almeida AC. Antimicrobial susceptibility and enterotoxin-encoding genes in *Staphylococcus* spp recovered from kitchen equipment from a university hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Micro Drug Resist*. 2018;24(7):995-1001. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0309>
19. Momesso NN, Lanziotti RS, Caproni PRR, Souza LH. Estudo da contaminação microbiana no preparo de fórmulas lácteas infantis em lactário de um hospital universitário do sul de Minas Gerais. *Rev Cienc Saude*. 2016;6(3):94-110. <https://doi.org/10.21876/rcsfmit.v6i3.581>
20. Maurício RA, Marta BBF, Petroni TF, Bronharo TM, Michelin AF. Qualidade microbiológica de formulações lácteas infantis manipuladas em hospital. *J Health Sci Inst*. 2017;35(2):112-6.
21. Barros LAC, Antônio L. Aspectos bacteriológicos de leite produzido e consumido em lactários de hospitais da cidade de Fortaleza. *Rev RCCS*. 1997;(9):67-75.
22. Reginato A, Trento FKS, Antunes EC, Pena FL, Kinchoku H, Giordano LCRS. Qualidade microbiológica de fórmulas infantis administradas em hospital público do município de Campinas, São Paulo. *Segur Aliment Nutr*. 2014;21(1):387-94. <https://doi.org/10.20396/san.v21i1.1665>
23. Guerra LDS, Rosa OO, Fujii IA. Avaliação da qualidade microbiológica de dietas enterais, fórmulas lácteas e da água de preparo. *Alim Nutr*. 2012;2(23):205-10.
24. Carneiro LAM, Silva APS, Merquior VLC, Queiroz MLP. Antimicrobial resistance in gram-negative bacilli isolated from infant formulas. *FEMS Microbiol Lett*. 2003;228(2):175-9. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00739-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00739-0)
25. Salles RK, Goulart R. Diagnóstico das condições higiênico-sanitárias e microbiológicas de lactários hospitalares. *Rev Saude Publica*. 1997;2(31):131-9. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101997000200005>
26. Leal D. Crescimento da alimentação fora do domicílio. *Segur Aliment Nutri*. 2018;17(1):123-32. <https://doi.org/10.20396/san.v17i1.8634806>
27. Hislop N, Shaw K. Food safety knowledge retention study. *J Food Protect*. 2009;72(2):431-5. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.2.431>
28. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Consulta pública Nº 542, de 17 de julho de 2018. Estabelece as listas de critérios microbiológicos de segurança e higiene para alimentos. *Diário Oficial União*. 18 jul 2018.

Agradecimentos

Agradecemos à Divisão de Nutrição do Hospital Universitário Pedro Ernesto pela parceria e por nos permitir coletar as fórmulas infantis para o estudo, em especial a nutricionista do lactário Deborah Rodrigues Siqueira.

Contribuição dos Autores

Todos os autores participaram da concepção, planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

Conflito de Interesse

Os autores informam não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.

Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.