



Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás

Ravelly Lucena Santos^{1,*}; Michelângela Suelleny de Caldas Nobre¹; Geovani Pereira Guimarães¹; Tassiana Barbosa Dantas¹; Karlete Vania Mendes Vieira¹; Delcio de Castro Felismino¹; Ivan Coelho Dantas¹

Universidade Estadual da Paraíba

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica quanto à presença de fungos filamentosos em ervas do tipo *Peumus boldus* Molina (Boldo), *Pimpinella anisum* L. (erva-doce) e *Matricaria chamomilla* L. (Camomila) comercializadas na cidade de Campina Grande (Paraíba). Nove amostras de cada planta foram analisadas, totalizando 27 amostras, obtidas aleatoriamente nas feiras livres e barracas informais da cidade. Cada 10 g de amostra foram suspensas em 90 mL de solução salina 0,89% estéril, obtendo-se o concentrado, a partir do qual foram realizadas diluições sucessivas. A seguir, uma alíquota de 0,1mL de cada diluição foi semeada em placas de Petri contendo Ágar Sabouraud Dextrose, as quais foram incubadas à temperatura ambiente por cinco a dez dias. Após este período foram contadas as colônias fúngicas presentes e realizados seus respectivos microcultivos para identificação através de microscópio óptico. Foram encontrados fungos toxigênicos como *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp., estando o primeiro presente em todas as amostras avaliadas. Também foram identificados os fungos *Exophiala* sp. e *Fonsecaea* sp., que possuem importância clínica, podendo causar micose. A forma como estas plantas são armazenadas para comercialização e a falta de fiscalização torna questionável a qualidade das plantas comercializadas para obtenção de chás, o que pode comprometer a saúde do consumidor ao utilizar esses produtos na forma de Chá.

Palavras-chave: Medicina Popular. Comercialização. Qualidade Microbiológica

INTRODUÇÃO

Produtos naturais com propriedades terapêuticas são utilizados desde o início da história da civilização humana, sendo, durante muito tempo, o principal recurso

terapêutico empregado na prevenção, no tratamento, na cura de distúrbios, disfunções ou doenças em homens e animais (Calixto, 2000).

Nas últimas décadas, o interesse pelas terapias naturais tem aumentado significativamente, tanto por populações de países desenvolvidos como em desenvolvimento, levando à expansão do uso de plantas medicinais. Este interesse pelo consumo de produtos naturais se deve à crença de serem estes mais “saudáveis” do que os medicamentos oriundos da medicina alopata, e também às características desejáveis que as plantas possuem, tais como: eficácia, baixo risco de uso, reprodutibilidade e constância de sua qualidade (Rates, 2001; Choi et al., 2002; Veiga Jr et al., 2005).

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 65 a 80% da população dos países em desenvolvimento depende das plantas medicinais para os cuidados primários com a saúde, devido às condições de pobreza e falta de acesso aos medicamentos (Calixto, 2000). Sabe-se que aproximadamente 82% da população brasileira utilizam produtos à base de ervas (Conselho Regional de Farmácia, 2006).

Atualmente, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais. Segundo Silva et al. (2001), esse tipo de comércio envolve várias espécies e inclui partes, produtos e subprodutos de plantas, sendo a maioria comercializadas somente pelo nome popular. Vale salientar que o comércio local não apresenta regulamentação ou controle e inclui plantas medicinais muitas vezes não estudadas ou ainda que não tivesse seus princípios ativos identificados e validados como terapêuticos, o que gera riscos à saúde da população. Ainda, nem sempre aqueles que comercializam as plantas medicinais são portadores, de fato, do conhecimento de suas aplicações, interações entre espécies distintas e modos corretos de uso (Araújo et al., 2009).

Relacionando-se ao uso e comércio de plantas medicinais, destaca-se a figura do raizeiro, pessoa já consagrada pela cultura popular, no que diz respeito ao conhecimento sobre o preparo, indicação e comercialização de plantas medicinais em ruas, feiras livres e mercados (Dourado et al., 2005).

Autor correspondente: Ravelly Lucena Santos - Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos da Universidade Estadual da Paraíba - e-mail: ravellylucena@hotmail.com

As plantas são utilizadas em práticas populares e tradicionais como remédios caseiros e comunitários, processo conhecido como medicina tradicional. Neste contexto, a utilização das plantas medicinais na forma de chás merece destaque, devido ao seu uso frequente e disseminado pela população em geral. O chá é uma bebida preparada com partes de uma ou várias plantas e água. Geralmente é preparado com água quente, o que pode variar com o tipo de chá que se pretende obter e a parte da planta a ser utilizada.

As plantas comercializadas, incluindo as medicinais, estão sujeitas à presença de variados tipos de contaminantes, sendo a contaminação microbiológica de importância significativa na medicina, pois pode oferecer riscos potenciais à saúde dos usuários. Em função da origem da planta, diversos tipos de microrganismos podem estar presentes, desde bactérias até fungos, tendo como possíveis fontes de contaminação a poluição na água de irrigação, atmosfera, solo, condições da coleta, manipulação, secagem e estocagem. Estes são itens importantes a serem considerados no controle de produtos naturais, por permitirem a ocorrência de altos níveis de contaminação microbiana, por vezes envolvendo agentes patogênicos (Bugno et al., 2005; Mandeel, 2005; Takahashi et al., 2009).

Em virtude da preocupação com a qualidade das plantas medicinais utilizadas para a produção de chás pela população, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica quanto à presença de fungos filamentosos em amostras vegetais utilizadas pela população na confecção de chás e comercializadas na cidade de Campina Grande-PB.

MATERIAIS E MÉTODOS

A escolha das espécies vegetais utilizadas teve como critério a indicação de maior comercialização pelos raizeiros locais, sendo elas: *Peumus boldus* Molina (boldo), *Pimpinella anisum* L. (erva-doce) e *Matricaria chamomilla* L. (camomila). De cada planta foram obtidas nove amostras, aleatoriamente, nas feiras livres, arcas e barracas informais da cidade, locais onde são comercializadas as referidas espécies. A coleta foi dividida em três etapas, uma para cada planta. As nove amostras de boldo foram coletadas nos meses de outubro e novembro de 2008, as de erva-doce, em janeiro e fevereiro de 2009, e as de camomila, em março e abril de 2009, na forma em que elas eram comercializadas, em sacos plásticos ou embrulhadas em papel jornal, e transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, onde ocorreram as análises.

Inicialmente pesou-se 10 g de cada amostra, as quais foram maceradas individualmente em geral com pistilo, previamente esterilizados, e transferidas para erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina 0,89% estéril. Em seguida, foram submetidas aos processos de agitação manual e filtração em funil com gaze estéril, obtendo-se o concentrado. Transferiu-se 10 mL desse filtrado para um erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina 0,89% estéril, o que originou a diluição 10^{-1} . Foram realizadas três diluições decimais sucessivas, a 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , sendo as mesmas produzidas consecutivamente em tubos contendo

9 mL de salina 0,89% estéril e 1 mL da diluição anterior a que era obtida (Santos et al., 1995; Pinto et al., 2000). Realizou-se um semeio através da técnica de *Spread plate*, transferindo 0,1 mL de cada diluição para placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose - ASD (DIFCO Laboratories Ltda.), as quais foram incubadas à temperatura ambiente por 5 a 10 dias (Santos et al., 1995; Pinto et al., 2000). Após o crescimento, as colônias fúngicas foram contadas (UFC/g) e identificadas através da macro e micromorfologia.

A macromorfologia consistiu na identificação das colônias através de sua pigmentação, textura, consistência, forma do verso e reverso e da velocidade de crescimento. A micromorfologia, por sua vez, foi avaliada através do microcultivo em lâmina, onde foram visualizadas as estruturas fúngicas de reprodução, como as hifas vegetativas, os conídios e os esporos (Hawksworth & Pitt, 1983; Pitt et al., 2000).

Os resultados foram analisados através de estatística descritiva, que de forma sintetizada descreveu os gêneros e o percentual de cada fungo filamentoso encontrado nas amostras das plantas medicinais estudadas.

RESULTADOS

De acordo com a análise dos resultados obtidos para as nove amostras de boldo, observou-se que todas apresentaram contaminação fúngica, contabilizando onze gêneros distintos, conforme a Tabela 1. Os gêneros *Aspergillus* e *Microsporum* destacaram-se por terem sido encontrados em todas as amostras enquanto os demais fungos apresentaram-se em menor proporção.

TABELA 1: Contaminação das amostras de Plantas Medicinais analisadas (%) de acordo com cada fungo encontrado.

| Fungos | Plantas Medicinais – Número de Amostras contaminadas (%) | | |
|----------------------------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| | Boldo (<i>Peumus boldus</i> Molina) | Erva-doce (<i>Pimpinella</i> <i>anisum</i> L.) | Camomila (<i>Matricaria</i> <i>chamomilla</i> L.) |
| <i>Aspergillus</i> sp. | 100 | 66,6 | 44,4 |
| <i>Microsporum</i> sp. | 100 | 0,00 | 0,00 |
| <i>Exophiala</i> sp. | 22,2 | 77,7 | 44,4 |
| <i>Penicillium</i> sp. | 33,3 | 33,3 | 0,00 |
| <i>Curvularia</i> sp. | 11,1 | 0,00 | 0,00 |
| <i>Acremonium</i> sp. | 11,1 | 0,00 | 0,00 |
| <i>Syncephalastrum</i> sp. | 22,2 | 0,00 | 33,3 |
| <i>Fonsecaea</i> sp. | 33,3 | 44,4 | 0,00 |
| <i>Mucor</i> sp. | 11,1 | 0,00 | 0,00 |
| <i>Alternaria</i> sp. | 11,1 | 11,1 | 0,00 |
| <i>Phialophora</i> sp. | 11,1 | 0,00 | 22,2 |
| <i>Fusarium</i> sp. | 0,00 | 11,1 | 11,1 |

As amostras de erva-doce não apresentaram muitas variedades fúngicas (Tabela 1), diferentemente das de boldo, além disso, nenhum gênero esteve presente em 100% das amostras. Analisando a Tabela 1, percebe-se que os gêneros *Exophiala* e *Aspergillus* foram os mais encontrados.

Nas amostras de camomila analisadas foi observada contaminação fúngica em todas as amostras, entretanto, com uma variação de gêneros ainda menor que nas amostras de erva-doce. Além disso, nenhum gênero esteve presente na totalidade das amostras. Os gêneros mais encontrados também foram *Aspergillus* e *Exophiala*, conforme apresenta a Tabela 1.

A fim de visualizar de uma forma mais ampla a contaminação fúngica dos três tipos de plantas estudadas, na Figura 1 observa-se a presença de cada gênero nas plantas. Desta forma, percebe-se que os gêneros *Aspergillus*, *Exophiala* e *Fonsecaea* se destacam em relação aos demais por estarem presentes nos três tipos de plantas, embora o *Aspergillus* mereça uma maior atenção por estar presente em uma maior quantidade de amostras das três plantas.

Neste estudo, foram encontrados gêneros distintos, alguns se repetindo em várias amostras. Foram encontrados 11 gêneros de fungos para as amostras de boldo, 6 para as de erva-doce e 5 para as de camomila.

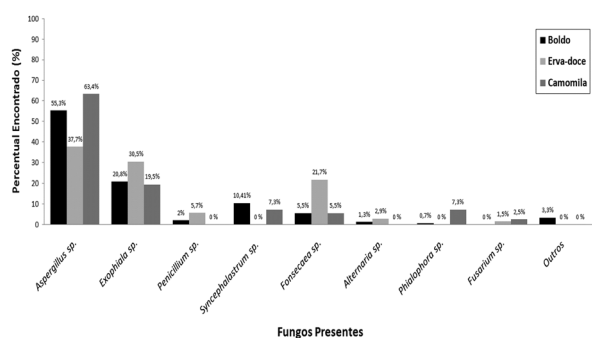


FIGURA 1. Percentual comparativo dos fungos encontrados nas amostras de boldo, erva-doce e camomila comercializadas em Campina Grande-PB.

DISCUSSÃO

Rocha et al. (2003) ao estudar amostras de boldo provenientes de farmácias de manipulação e mercados, encontraram fungos dos gêneros *Mucor*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Acremonium* e *Aspergillus* nas amostras provenientes do mercado e fungos dos gêneros *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mycelia*, *Aureobasidium* e *Penicillium* naquelas obtidas em farmácias. Analisando microscopicamente amostras de boldo, Furlaneto et al. (2003) detectaram a presença de *Aspergillus* sp. em 47% das amostras, e Roy & Kumari (1991) além de *Aspergillus* sp. encontraram o gênero *Mucor* no boldo estudado.

Também foram encontrados nas amostras de boldo fungos do gênero *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp. e *Curvularia* sp., assim como em estudo realizado por Carvalho & Muchovej (1991) com sementes de fedegoso [*Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn.], cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.), alfeneiro (*Ligustrum japonicum*), ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* Nichols) e pinus (*Pinus insulares*).

Alguns dos bolores encontrados nas amostras de boldo são comumente encontrados dispersos no ar, causando não só intoxicações pelos seus metabólitos tóxicos, como por exemplo, a micotoxina aflatoxina desenvolvida pelas

espécies *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. Nomius*, como também ocasionando alergias respiratórias (Rocha et al., 2003) e dermatofitose humana e animal pelo *Microsporurum canis*. Além disso, de acordo com a própria origem das drogas vegetais, as plantas utilizadas para chás estão propícias a contaminações por microrganismos oriundos do solo e da água, podendo estes ser ou não potencialmente patogênicos ao homem (Furlaneto et al., 2003).

A produção de micotoxinas geralmente está relacionada às condições ambientais de cultivo e armazenamento, tornam-se necessárias investigações contínuas de sua ocorrência (Pittner et al., 2007). Barbosa et al. (2010), avaliando a qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG, observaram que 72,3% das amostras avaliadas apresentaram contaminações fúngicas, e concluíram que um dos motivos da contaminação seria o contato das plantas com o solo, tornando importante a conscientização de agricultores no sentido de adequarem às boas práticas do cultivo de plantas e, conseqüentemente, assegurar a qualidade microbiológica das mesmas.

Embora as amostras de erva-doce e de camomila não apresentaram muitas variedades fúngicas (Tabela 1), os gêneros fúngicos nelas evidenciados, como *Fonsecaea* e *Exophiala*, são de grande importância médica por serem causadores de cromoblastomicose, uma micose profunda, crônica e progressiva da pele e do tecido subcutâneo. Esses gêneros podem ser encontrados no solo ou em vegetais e são introduzidos no organismo por ferimentos ou traumas, contaminando manipuladores (Sampaio & Rivitti, 2008).

Segundo Vogel & Jiménez (2006), o gênero *Fusarium*, também presente em amostras de erva-doce e camomila (Tabela 1), representa grande preocupação no campo da saúde pública de modo similar ao gênero *Aspergillus*. Espécies do gênero *Fusarium* são produtoras de micotoxinas, como as fusariotoxinas (Fumonisina e Tricotecenos), as quais estão relacionadas com a produção de câncer de esôfago em humanos, leucoencefalomalácia (doença que atinge fatalmente o SNC em equinos), edema pulmonar e degeneração hepática em suínos, nefropatia em coelhos e cordeiros; hepatotogenicidade e hepatotoxicidade em ratos (Vogel & Jiménez, 2006). Além disso, a Aleuquia Tóxica Alimentar (ATA) foi associada ao homem por induzir sintomas característicos quando estes fazem uso de grãos contaminados por *Fusarium* sp. (Scussel, 1998). Além desses gêneros supracitados, o *Penicillium*, encontrado em 33,3% das amostras de erva-doce, também é produtor de micotoxinas, as ocratoxinas, cuja intoxicação caracteriza-se pela redução das funções renais (Vogel & Jiménez, 2006).

Observando o destaque da presença do gênero *Aspergillus* em relação aos demais gêneros evidenciados nas amostras de boldo, erva-doce e camomila (Figura 1), pode-se perceber que estes dados são semelhantes aos encontrados por Bugno et al. (2005) quando analisaram amostras vegetais, dentre elas erva-doce, e encontraram este mesmo gênero em suas amostras. Entretanto, resultados diferentes foram obtidos em relação ao *Penicillium* sp., pois os referidos autores observaram um percentual superior ao encontrado nesse estudo. Ao realizar análises equivalentes na Polônia, Mandeel (2005)

também evidenciou a ocorrência dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em amostras de erva-doce.

As drogas vegetais podem conter um grande número de fungos e bactérias, geralmente provenientes do solo, como citado anteriormente, pertencentes à microflora natural de certas plantas ou mesmo introduzidas durante a manipulação (Souza et al., 2006; Chimin et al., 2008). Sabe-se que existe uma diversidade de fungos nos mais variados ambientes, sendo muitos não patogênicos ao homem.

Através da análise dos resultados obtidos, observou-se uma diversidade fúngica contaminante nas espécies de plantas estudadas. Apesar desta variedade, alguns gêneros foram detectados em mais de uma espécie vegetal, como os fungos toxigênicos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp; também foram encontrados fungos produtores de micose como *Exophiala* sp. e *Fonsecaea* sp. A utilização de chás com presença de fungos patogênicos pode acarretar danos à saúde do consumidor, dependendo da forma de preparo do chá e da quantidade de células viáveis dos microrganismos presentes na planta, antes e após o preparo. Deste modo, conclui-se que os chás comercializados nas feiras livres, arcas e barracas de Campina Grande – PB necessitam de melhor fiscalização por parte do setor competente, a exemplo da vigilância sanitária, visto que a falta de fiscalização torna duvidosa a qualidade das plantas comercializadas para obtenção de chás, o que pode comprometer a saúde do consumidor, acarretando um problema de saúde pública.

ABSTRACT

Fungal contamination of medicinal plants used in teas

The aim of this study was to assess the microbiological quality, with regard to the presence of filamentous fungi, of the tea herbs *Peumus boldus* Molina (boldo leaf), *Pimpinella anisum* L. (anise) and *Matricaria chamomilla* L. (wild chamomile) marketed in the city of Campina Grande (Paraíba State, Brazil). Nine samples of each plant, totaling 27 samples, were randomly collected in street markets and informal stalls in the city. In the laboratory, 10 g of each sample was ground and suspended in 90 mL of 0.89% sterile saline solution, affording the concentrate from which serial dilutions were obtained. Aliquots of 0.1 mL of each dilution were spread on plates of Sabouraud Dextrose Agar, which were then incubated at room temperature for five to ten days. After this period, the fungal colonies were counted, their morphology was analyzed and subcultures were made on slides for identification by optical microscope. Toxigenic fungi such as *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Fusarium* sp. were found, the first being present in all plant samples. The fungi *Exophiala* sp. and *Fonsecaea* sp., which are clinically significant as they can cause mycoses, were also identified. The method of storing these plants before sale and the lack of inspection raise questions about the quality of the marketed herbs, suggesting that the health of the consumer who uses these products to make tea could be harmed.

Keywords: Popular Medicine. Marketing. Microbiological Quality

REFERÊNCIAS

Araújo AC, Silva JP, Cunha JLXL, Araújo JLO. Caracterização socio-econômico-cultural de raizeiros e procedimentos pós-colheita de plantas medicinais comercializadas em Maceió, AL. *Rev Bras Pl Med*. 2009;11(1):81-91.

Barbosa CKR, Costa JPR, Bonfim FPG, Almeida AC, Martins ER. Qualidade microbiológica de plantas medicinais cultivadas e comercializadas em Montes Claros, MG. *Biotemas*. 2010;23(1):77-81.

Bugno A, Buzzo AA, Nakamura CT, Pereira TC, Matos D, Pinto TJA. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. *Braz J Pharm Sci*. 2005;41(4):491-97.

Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*. 2000;33(2):179-89.

Carvalho WL, Muchovej JJ. Fungos associados à sementes de essências florestais. *Rev Árvore*. 1991;15(2):173-78.

Chimin A, Lima EL, Beltrame FL, Pereira AV, Esmerino LA. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de *maytenus ilicifolia* (espinheira-santa) comercializadas no estado do Paraná. *Lat. Am. J. Pharm*. 2008;27(4):591-7.

Choi DW, Kim JH, Cho SY, Kim DH, Chang SY. Regulation and quality control of herbal frugs in Korea. *Toxicology*. 2002;181-182(1):581-86.

Conselho Regional de Farmácia. Medicamentos fitoterápicos [Internet]. 2006 [citado 2008 mar. 22]. Disponível em: www.crfsp.org.br.

Dourado ER, Doca KNP, Araujo TCC. Comercialização de plantas medicinais por “raizeiros” na cidade de Anápolis-GO. *Rev Elet Farm*. 2005;2(2):67-9.

Furlaneto L, Marin VD, Endo R. Qualidade Microbiológica de Drogas Vegetais Comercializadas nas Ruas da Cidade de Londrina/PR e de seus Infusos. *Rev Saúde*. 2003;10(5):49-52.

Hawksworth DL, Pitt JI. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. *Austr J of Botany*. 1983;31(1):51-61.

Mandel QA. Fungal contamination of some imported spices. *Mycopathologia*. 2005;159(2):291-8.

Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu; 2000.

Pitt JI, Basílico JC, Abarca ML, López C. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Med Mycol*. 2000;38(1):41-6.

Pittner E, Czervinski T, Sanches HF, Monteiro MC. Isolamento de fungos em alguns produtos derivados de milho. *Publ UEPG Ci Biol Saúde*. 2007;13(1/2):21-27.

- Rates SMK. Plants as source of drugs. *Toxicon*. 2001;39(5):603-13.
- Rocha LO, Soares MMSR, Corrêa CL. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. *Braz J Pharm Sci*. 2003;40(4):521-7.
- Roy AK, Kumari V. Aflatoxin and citrinin in seeds of some medical plants under storage. *Int J of Pharmaceutics*. 1991;29(1):62-5.
- Sampaio SAP, Rivitti EA. *Dermatologia*. 2 ed. São Paulo: Artes; 2008.
- Santos PRV, Oliveira ACX, Tomassini TCB. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. *Rev Farm Bioq*. 1995;31(1):35-8.
- Scussel VM. *Micotoxinas em Alimentos*. Florianópolis: Insular; 1998.
- Silva SR, Buitrón X, Oliveira LH, Martins MVM. *Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio*. Brasília, DF: Ministério de Cooperação Econômica e Desenvolvimento da Alemanha; IBAMA; 2001.
- Souza TP, Lionzo MIZ, Petrovick PR. Avaliação da redução da carga microbiana de droga vegetal através do processamento tecnológico: decocção e secagem por aspersão. *Rev Bras Farmacogn*. 2006;16(1):94-8.
- Takahashi LSAT, Souza JRP, Yoshida AE, Rocha JN. Condições de armazenamento e tempo de embebição na germinação de sementes de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.). *Rev Bras Plantas Med*. 2009;11(1):1-6.
- Veiga Jr VF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? *Quím Nova*. 2005;28(3):519-28.
- Vogel SD, Jiménez LCV. Micotoxinas em la salud pública. *Rev Salud Públ*. 2006;8(1):129-135.

Recebido em 17 de abril de 2012

Aceito para publicação em 21 de novembro de 2012

