

INFECÇÕES CAUSADAS POR MALASSEZIA: NOVAS ABORDAGENS

Infections by malassezia: new approaches

Mariane de Mello Maraschin¹, Tatiana Spader², Débora Alves Nunes Mario³, Luana Rossato³, Paulo Guilherme Markus Lopes².

RESUMO

O gênero *Malassezia* compreende fungos leveduriformes lipofílicos e lipodependentes que recentemente sofreram mudanças em sua classificação taxonômica, com a introdução de quatro novas espécies: *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. slooffiae* e *M. restricta*, além das espécies *M. furfur*, *M. pachydermatis* e *M. sympodialis*, anteriormente descritas. Estes fungos estão associados a vários quadros patológicos que incluem infecções como a pitiríase versicolor, dermatite seborréica, dermatite atópica, fungemia, entre outros. Estes quadros eram, até pouco tempo atrás, considerados exclusivamente causados pela espécie *M. furfur*. As mudanças na classificação taxonômica do gênero *Malassezia* levaram a uma reavaliação dos procedimentos laboratoriais utilizados para a identificação deste agente etiológico. Entre eles podemos citar o estudo e a caracterização morfológica das espécies, sua tolerância térmica, suas necessidades nutricionais para determinados tipos de ácidos graxos, bem como a composição e as características do DNA de cada uma delas.

Palavras chave: *Malassezia*, pitiríase versicolor, taxonomia.

SUMMARY

The genus *Malassezia* comprises lipophylic and lipodependent species that recently were reclassified with the description of four new species: *M. globosa*, *M. obtuse*, *M. slooffiae* and *M. restricta*. The species previously described are *M. furfur*, *M. pachydermatis* and *M. sympodialis*. These yeasts are associated to pathologies that include tinea versicolor, seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, fungemias, among others. These diseases were previously thought to be caused exclusively by the species *M. furfur*. The taxonomical changes observed for the *Malassezia* species has led to the reassessment of the laboratory methodologies which were formerly used for the identification of the etiologic agent. Morphologic and physiologic variations for each species, termo-tolerance, the requirement for certain long-chain fatty acid sources, as well the composition and characteristics of their DNA are among them.

Key words: *Malassezia*, tinea versicolor, taxonomic classification

INTRODUÇÃO

O gênero *Malassezia* compreende fungos leveduriformes lipofílicos e lipodependentes que, recentemente, sofreram mudanças em sua classificação taxonômica, com a introdução de novas espécies: *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. slooffiae* e *M. restricta*, além das espécies *M. furfur*, *M. pachydermatis* e *M. sympodialis*, anteriormente descritas^{1,2}.

A importância das leveduras do gênero *Malassezia* vem aumentando a partir de seu reconhecimento como importantes patógenos tanto em pacientes imunocompetentes como em pacientes com algum tipo de imunodepressão. O esforço na

identificação de novas espécies decorre da necessidade de entendimento mais abrangente da patogênese das dermatoses a elas associadas^{1,2}.

ATUALIZAÇÃO TAXONÔMICA

Guého & Meyer³, em 1994, estudando os ácidos nucléicos das leveduras desse gênero puderam diferenciar três espécies: *Malassezia furfur*, *Malassezia pachydermatis* e *Malassezia sympodialis*, com relação guanina/citosina de 66%, 55,5% e 54%, respectivamente. A *Malassezia furfur*, levedura

Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisas Micológicas (Lapemi), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

¹Professora do Departamento de Microbiologia e Parasitologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS.

²Aluno(a) do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

³Acadêmicas do curso do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

antropofílica lipodependente, pode se apresentar sob forma oval ou cilíndrica, a primeira anteriormente denominada *Pityrosporum ovale*, e a segunda, *Pityrosporum orbiculare*³. A inclusão dessas formas numa única espécie é baseada em estudos morfológicos (similaridade ultra-estrutural), fisiológicos (dependência lipídica semelhante), imunológicos (similaridade antigênica) e genéticos (mesmo percentual de guanina/citosina). Guého & Meyer, em 1989, passam a considerar *P. ovale* e *P. orbiculare* sinônimos de *M. furfur*, que tem a prioridade do nome^{3,4}.

O gênero *Malassezia*, descrito por Baillon em 1889, teve sua classificação taxonômica revisada em 1996. A partir desta revisão, ocorreu então, a incorporação de quatro novas espécies ao gênero: *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa*, *Malassezia restricta* e *Malassezia slooffiae*. Essas espécies ainda não são reconhecidas com unanimidade pelos taxonomistas, entretanto, essa revisão taxonômica permitiu uma nova abordagem da patogênese das doenças associadas às espécies de *Malassezia*^{5,6}.

A identificação e diferenciação das espécies incluem: a análise morfológica das colônias e das células; detalhes ultra-estruturais; propriedades fisiológicas (presença ou não de catalase, tolerância à temperatura de 32° C e habilidade de utilizar diferentes concentrações de Tween como fonte de gordura) e comparação da sequência de seus rRNA com a das três espécies anteriormente descritas^{4, 5, 6}.

Todas as sete espécies descritas de *Malassezia* são lipofílicas, mas só a *M. pachydermatis* não é lipodependente, isto é, pode ser cultivada em meio de ágar Sabouraud dextrose. Entre as seis espécies lipodependentes apenas a *M. restricta* não apresenta catalase^{5,6}.

Malassezia furfur, a espécie mais freqüente, faz parte da microbiota normal da pele dos seres humanos. Cresce em presença de concentrações variadas de ácidos graxos de cadeia longa, incluindo ácido ricinoléico e seus derivados. A temperatura ótima de crescimento é de 32°C, embora também possa crescer em temperaturas de até 41°C. As colônias desta espécie apresentam textura cremosa, são friáveis, convexas e de coloração branco-fosco. No exame microscópico observam-se células de tamanhos e formas variadas: ovais, esféricas ou cilíndricas. *M. furfur* se manifesta sob três formas de infecções superficiais: pitíriase versicolor, foliculite e dermatite seborréica^{6,7}. Entretanto, nos últimos anos, este microrganismo tem sido reconhecido também, como agente etiológico de sérias infecções sistêmicas em recém nascidos prematuros, e, menos freqüentemente em adultos imunocomprometidos^{3, 6, 7}.

Malassezia pachydermatis forma colônias foscas com aspecto cremoso e textura macia ou friável. Na micromorfologia são observadas células ovais pequenas, a temperatura ideal para o seu desenvolvimento é de 37°C, com máximas de 40°C ou 41°C. Esta espécie é zoofílica, porém já foi evidenciada em neonatos com fungemia. Apresenta maior atividade patológica em animais carnívoros, principalmente em cães, onde causa quadros de otites^{1,8}.

Malassezia sympodialis apresenta colônias brilhantes, lisas, planas, com elevação central e textura macia. Na micromorfologia são observadas células ovais ou globosas. É diferenciada de *M. furfur* pelo seu brotamento simpodial. Não cresce em presença de Tween 20 como única fonte de ácidos graxos, porém cresce em meios suplementados com Tween 40, 60 ou 80. A temperatura ótima de crescimento é de 37°C, embora também possa suportar 41°C. Essa espécie tem sido relacionada à microbiota humana e a quadros de pitíriase versicolor^{1,2,4}.

Malassezia globosa apresenta colônias elevadas, dobradas e rugosas, ásperas e quebradiças. Ao exame microscópico apresenta formato esférico com brotos formados na base estreita. Algumas vezes pode ser observada produção de pequenos filamentos próximos ao local de formação do broto. Não cresce em agar peptonado com glicose acrescido dos diversos tipos de Tween. Cresce pouco ou não cresce em temperaturas de 37°C^{1,4}.

Malassezia obtusa possui colônias planas e lisas, apresenta textura mucóide. Células cilíndricas grandes são observadas na micromorfologia. Os brotos são formados na base larga de célula mãe, enquanto os filamentos podem ser formados sobre qualquer ponto da superfície do micélio. Não cresce em presença de Tween 20, 40, 60 ou 80, que seja utilizado isoladamente como única fonte de ácidos graxos. Geralmente cresce a 37°C, porém não tolera temperaturas superiores a 38°C^{1,4,5}.

Na espécie *Malassezia restricta* as colônias são lisas ou rugosas de textura dura ou quebradiça. Na micromorfologia observam-se células ovais ou esféricas. Não cresce na presença dos vários tipos de Tween como única fonte de ácidos graxos. Cresce a 37°C, podendo resistir até 39°C^{1,4,5}.

As colônias de *Malassezia slooffiae* são rugosas geralmente com sulcos e textura áspera. Células curtas cilíndricas são observadas ao microscópio. Cresce em presença de Tween 40 e 60, porém não em presença de Tween 80. Cresce a 37°C, podendo resistir até 40°C^{1,2,5}.

O esforço na identificação de novas espécies do gênero *Malassezia* vem ao encontro da necessidade de mais abrangente entendimento da patogênese das dermatoses a elas associadas¹.

PATOLOGIAS ASSOCIADAS ÀS ESPÉCIES DE MALASSEZIA

Entre as patologias que estão associadas às infecções por espécies de *Malassezia* podemos citar pitíriase versicolor, foliculite pitisspórica e infecções sistêmicas. Já na dermatite seborréica, dermatite atópica, papilomatose confluyente reticulada de Gougerot e Carteaud, o papel patogênico de *Malassezia* não está claramente definido, embora seus quadros

clínicos possam ser agravados ou desencadeados por esta levedura^{1,5,7}.

Vários estudos têm demonstrado que entre 50 a 100% dos indivíduos sadios são portadores destas leveduras lipofílicas, principalmente em regiões do corpo ricas em glândulas sebáceas^{8,9,10}.

Ptíriase versicolor é uma infecção superficial, benigna, freqüentemente recidivante, caracterizada por lesões maculosas, discrômicas e descamativas, que se distribuem em maior freqüência na face, no tronco e nos membros superiores^{7,9}. A maior freqüência dos casos ocorre a partir da puberdade, quando acontecem as alterações nos lipídios na superfície da pele decorrentes das modificações hormonais¹⁰. Esta dermatose apresenta maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais, onde o clima quente e úmido favorece a colonização da pele pelo fungo, o que pode explicar o aumento da sua incidência nos meses de verão^{10,11}.

Vários estudos procuram explicações para a variação de tonalidade das lesões, às vezes no mesmo paciente. As lesões hiperpigmentadas parecem ser devidas tanto ao aumento do tamanho dos melanossomos e mudanças em sua distribuição na epiderme quanto ao aumento do turnover das células da camada córnea nas lesões. Lesões hipopigmentadas podem ser resultantes da inibição da reação dopa-tirosinase por frações lipídicas (ácidos dicarboxílicos) produzidas pelo fungo quando em meio gorduroso, determinando a pouca melanização^{11,12}. A influência dos fatores imunológicos na patogenia da ptíriase versicolor ainda é pouco conhecida. A maioria dos indivíduos normais apresenta anticorpos séricos (IgG) para *M. furfur*, com títulos mais altos nos adultos do que nas crianças. Dessa forma, a resposta imune humoral parece estar relacionada ao estado de portador do indivíduo e não à patogênese da ptíriase versicolor ou à de outras dermatoses associadas a leveduras do gênero *Malassezia*^{5,12}.

O estiramento da pele afetada pode facilitar a visualização da descamação. Essa manobra é conhecida por sinal de Zileri. O sinal da unha consiste em passar a unha sobre a lesão, com a mesma finalidade: observar a descamação^{1,12}.

A foliculite pitipórica é uma doença infecciosa de distribuição universal, ocorrendo com maior freqüência em regiões de clima quente e úmido. As mulheres com idade entre 25 a 35 anos são a principal população atingida. Esta infecção é caracterizada pela formação de pápulas e pústulas foliculares nos membros superiores, tronco e no pescoço. A formação das pústulas ocorre pela obstrução do folículo piloso por massas de leveduras, e o processo inflamatório ocorre devido à quebra dos ácidos graxos livres e triglicérides^{2,5}. Altos títulos de anticorpos da classe IgG são observados em durante a evolução da infecção quando comparados a pacientes que apresentam quadros de ptíriase versicolor ou pacientes saudáveis¹¹.

Dermatite seborréica é uma dermatose de distribuição universal, e suas principais características são a inflamação e a descamação da pele em áreas ricas em glândulas sebáceas, como

face, couro cabeludo e tronco. O grupo mais atingido é aquele representado por indivíduos do sexo masculino com idade superior a 40 anos¹. Entretanto recém-nascidos a partir de 8 dias de vida também podem ser acometidos por esta dermatose^{7,9,10}.

A dermatite seborréica caracteriza-se pela formação de lesões eritemato-descamativas acompanhadas ou não de prurido, sendo associada freqüentemente à colonização por *Malassezia*^{9,10}. Em pacientes HIV-positivos ela é desencadeada de forma súbita e com quadro clínico mais intenso ou grave. Nesta dermatose as espécies *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis* e *M. pachydermatis* têm sido isoladas com maior freqüência¹¹.

A partir de 1980, este gênero passou a ser reconhecido em quadros de sepse e infecções sistêmicas envolvendo neonatos que recebiam nutrição parenteral lipídica via cateter venoso central (CVC) do tipo Broviac ou Hickman. Acredita-se que a suplementação lipídica facilite a colonização do cateter utilizado para infundir os nutrientes. Em recém-nascidos a colonização por *Malassezia* pode evoluir para um quadro de fungemia, sendo que a remoção do cateter contaminado pode ser suficiente para limitar a infecção na maioria dos casos^{13,14}.

O maior número de casos de fungemia ocorre em crianças com menos de doze meses de idade. Nessa população, esta infecção por *M. furfur* raramente permanece assintomática. Pneumonia intersticial e trombocitopenia são achados clínicos comuns neste grupo de pacientes, e o sintoma mais freqüente nos casos de infecções sistêmicas em crianças é febre juntamente à disfunção respiratória com ou sem apnéia^{15,16}. Outros sintomas menos comuns incluem letargia, desnutrição, bradicardia e hepatoesplenomegalia. Entretanto, nenhum sinal de eritema, inchaço ou purulência aparecem no sítio de entrada do cateter. Sinais de rash cutâneo também não são evidentes em crianças com infecções sistêmicas. Broncopneumonia intersticial pode ser encontrada em 40% das crianças^{17,18}.

Casos de fungemia por *Malassezia* em adultos são raramente citados na literatura, desta forma, a sintomatologia da infecção não se encontra tão bem definida como na população infantil, entretanto, sabe-se que a população de risco inclui pacientes trombocitopênicos, leucêmicos e pacientes submetidos a transplante de medula óssea, ou seja, indivíduos severamente imunocomprometidos^{16,18,19}.

De acordo com Zait et al.¹, o desenvolvimento e a evolução de quadros patológicos associados às espécies do gênero *Malassezia* necessitam, de fatores predisponentes no hospedeiro. Schmidt¹² cita deficiências vitamínicas, desnutrição, doenças crônicas infecciosas como tuberculose, diabetes melito, corticoterapia sistêmica, gravidez, imunodepressão e taxas elevadas de cortisol plasmático como fatores predisponem para estas infecções.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

No diagnóstico da pitiríase versicolor, raspados da lesão são clarificados com hidróxido de potássio a 10% e examinados ao microscópio para a procura de massas de leveduras agrupadas e hifas curtas e tortuosas, que são características desta levedura¹⁰.

O exame com a luz de Wood revela fluorescência característica amarelada, que permite avaliar a extensão do acometimento cutâneo, entretanto, alguns pacientes não apresentam lesões fluorescentes, sobretudo naqueles com a pele umedecida pelo calor^{11,12}.

Para a identificação das espécies é necessário cultivá-las inicialmente em ágar Sabouraud a 32°C contendo uma fina camada de óleo de oliva como fonte de ácidos graxos. Posteriormente as mesmas devem ser submetidas a ensaios morfofisiológicos para a identificação da espécie. O meio de Dixon também pode ser utilizado para o cultivo destas espécies¹⁹.

A fungemia por *M. furfur* algumas vezes é diagnosticada através da detecção do organismo em esfregaços de amostras de sangue. Entretanto o diagnóstico é feito na maioria das vezes através do isolamento do microrganismo a partir de sangue coletado através do cateter ou através de cultura da ponta de cateter após a sua retirada. Na suspeita de sepse, por *Malassezia*, a ponta do cateter deve ser cultivada em caldo enriquecido com lipídios^{20,21}.

TRATAMENTO

Sendo as leveduras do gênero *Malassezia* componentes da microbiota normal da pele, mais importante do que qualquer medicação é a orientação do paciente para que colabore no sentido de tentar evitar hábitos e condições que possam transformar o fungo, de sapróbio em parasita. Assim, evitar a utilização de lubrificantes nas áreas seborréicas da pele, controlar a sudorese excessiva e adquirir hábitos de higiene adequados, como, por exemplo, tomar banho logo após exercícios físicos, são orientações fundamentais para evitar as freqüentes recidivas^{22,23}.

Tratamento tópico deve ser a opção para os pacientes que apresentem poucas lesões e deve ser utilizado na profilaxia das recidivas. Tratamento sistêmico é indicado nas formas clínicas extensas, nas infecções recorrentes ou na falha da terapêutica tópica^{20,22}.

No tratamento tópico podem-se empregar agentes ceratolíticos na forma de loções, xampus ou sabonetes. Hipossulfito de sódio, sulfeto de selênio e ácido salicílico são os mais utilizados. Derivados imidazólicos (cetoconazol, clotrimazol, econazol, oxiconazol), ciclopirox olamina, derivados morfolínicos e terbinafina a 1% são eficazes na terapêutica tópica. Quando a opção for o tratamento tópico deve-se orientar o uso de xampus terapêuticos de rotina^{22,23}.

O tratamento sistêmico é possível com drogas de amplo espectro de ação, como os derivados azólicos - cetoconazol 200mg/dia, durante 10 ou mais dias - ou derivados triazólicos - itraconazol

200mg/dia, durante cinco dias ou fluconazol 400mg, dose única^{22,23}. O índice de recorrência é alto. Segundo Zait e Sampaio²⁴, 60% dos pacientes recidivam após um ano, e 80% após dois anos da cura clínica, fazendo-se necessária a utilização de esquemas de manutenção tanto tópico como sistêmico. Exposição ao sol deve ser recomendada, durante ou após o tratamento, para acelerar a repigmentação da freqüente hipocromia residual²⁴.

A conduta terapêutica padrão para as infecções sistêmicas por *Malassezia* ainda não está bem definida, uma vez que a fungemia por este microrganismo é relativamente incomum^{20,22}. Entretanto, alguns autores preconizam o uso de anfotericina B, anfotericina B lipossomal ou fluconazol para a terapia destas infecções^{16,22}. De acordo com Morrison e Weisdorf¹⁶, todos os pacientes incluídos em seu estudo curaram-se sem a administração da terapia antifúngica sistêmica.

O fator mais importante para o sucesso terapêutico da infecção sistêmica é a remoção do cateter infectado e a interrupção da infusão de lipídios, com administração ou não de antifúngico^{15,18,21}.

CONCLUSÃO

O gênero *Malassezia* passou por várias mudanças taxonômicas, e ainda não foi alcançada uma solução definitiva para a classificação sistemática deste fungo leveduriforme. A importância na diferenciação das espécies não reside apenas no fato da identificação por si só, mas sim, no fato de que possam existir diferenças, ainda não determinadas, na patogenicidade, das espécies. Visto que já foram descritas variações na freqüência das mesmas nas lesões e na intensidade da agressão por cada uma das espécies, assim como possíveis diferenças na sua sensibilidade in vitro aos agentes antifúngicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Schlottfeldt FS, Tramontin SW, Nappi BP, Santos, JI. Reclassificação taxonômica de espécies do gênero *Malassezia*: revisão da literatura sobre implicações clínico laboratoriais. J Brás de Patologia e Medicina Laborat 2002; 38 (3): 199-204.
- Zait C, Ruiz LRB, Souza VM. Dermatoses associadas às leveduras do gênero *Malassezia*. An Bras Dermatol 2000; 75(2): 129-142.
- Guého E, & Meyer SA. A reevaluation of the genus *Malassezia* by means genome comparison. Clin Microbiol Rev 1989; 55: 245-251.
- Guého E, Midgley G, Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. Antonie van Leeuwenhoek 1996; 69:3 37-355.
- Simmons RB, & Guého E. A new species of *Malassezia*. Mycol.

- Res. 1990;94:1146-49.
6. Guillot J, Guého E, Lesourd M, Midgley G, Chévrier G, & Dupont B. Identification of *Malassezia furfur* species. A practical approach. *J. Mycol. Méd.* 1996; 6: 103-10.
7. Sancho MC, Sáenz MC, Borraz LA. Afecciones cutáneas relacionadas con *Malassezia furfur*. *Revista Clínica Española*, 1997; 197(6): 137-40.
8. Chryssanthou E, Broberger U, Petrini B. *Malassezia pachydermatis* fungemia in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatric* 2001; 90(3): 323-327.
9. Leeming JP, Notman FH, Hollanda KT. The distribution and ecology of *Malassezia furfur* and cutaneous bacteria on human skin. *J Appl Bacteriol* 1989; 67(1): 47-52.
10. Nabayashi A, Sei Y, Guillot J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. *Med Mycol* 2000; 38(5): 337-341.
11. Roza MS, Vieira PV, Dornellas D, Frade MA, Rodrigues MT, Carvalho MT. Pitiríase versicolor e síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA). *An Brás Derm* 2003; 78(5): 569-577.
12. Schmidt A. *Malassezia furfur*: a fungus belonging to the physiological skin flora and its relevance in skin disorders. *Cutis* 1997; 59(1): 21-24.
13. Schleman KA, Tullis G, Raymond B. Intracardiac *Malassezia furfur* Fungemia. *CHEST* 2000; 118: 1828-1829.
14. Marcon MJ, Powell DA. Human infections due to *Malassezia* spp. *Clin Microbiol Rev* 1992; 5(2):101-119.
15. Barber GR, Brown AE, Kiehn TE, Edwards FF, Armstrong D. Catheter-related *Malassezia furfur* fungemia in immunocompromised patients. *Am J Med.* 1993; 95(4):365-370.
16. Morrison VA, Weisdorf DJ. The spectrum of *Malassezia* infections in the bone marrow transplant population. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26(6): 645-648.
17. Meyers JD. Fungal infections in bone marrow transplant patients. *Semin Oncol.* 1990; 17(6):10-13.
18. Pizzo PA, Walsh TJ. Fungal infections in the pediatric cancer patient. *Semin Oncol.* 1990; 17(6): 6-9.
19. Brown AE. Overview of fungal infections in cancer patients. *Semin Oncol.* 1990; 17(6): 2-5.
20. Morrison VA, Haake RJ, Weisdorf DJ. Non-Candida fungal infections after bone marrow transplantation: risk factors and outcome. *Am J Med.* 1994; 96(6): 497-503.
21. Weiss SJ, Schoch PE, Cunha BA. *Malassezia furfur* fungemia associated with central venous catheter lipid emulsion infusion. *Heart Lung.* 1991; 20(1): 87-90.
22. Strippoli V, Piacentini A, D'Auria FD, Simonetti N. antifungal activity of ketoconazole and azoles against *Malassezia furfur* in vitro and in vivo. *Infection* 1997; 25: 303-306.
23. Leeming JP, Sansom JE, and Burton JL. Susceptibility of *Malassezia furfur* subgroups to terbinafine. *British Journal of Dermatology* 1997; 137: 764-67.
24. Zaitz C, Sampaio SAP. Avaliação da eficácia e tolerabilidade do itraconazol no tratamento da pitiríase versicolor. *An bras Dermatol*;1995; 70(3): 195-8.

Endereço para correspondência:

Mariane Maraschin

Departamento de Microbiologia e Parasitologia - Prédio 20

Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria RS - CEP: 97110-970

Telefone: (55)-3220-8242

e-mail: anemaraschin@yahoo.com.br