

Espécies fúngicas isoladas a partir de unhas de manipuladores de alimentos*

Fungal species isolated from food manipulators`nails

Kedma de Magalhães Lima¹, Rossana Sette de Melo Rêgo² & Francisco Montenegro³

RESUMO - Doenças veiculadas por alimentos representam um importante problema de saúde pública, acometendo principalmente crianças, idosos e imunocomprometidos. Embora a contaminação alimentar possa ter várias origens, a inadequada manipulação dos alimentos durante seu processamento e distribuição é uma das principais causas de disseminação destas enfermidades. Infecções fúngicas ungueais podem favorecer a instalação de bactérias responsáveis por intoxicações alimentares. Objetivamos demonstrar espécies fúngicas isoladas em unhas de 50 manipuladores de alimentos com idades entre 20-50 anos. Foram realizados exames diretos com KOH 30% e culturas em Sabouraud-cloranfenicol. Leveduras foram identificadas em CHROMagar® *Candida*, microcultivos em lâmina e provas bioquímicas. Houve isolamento de *Candida* sp. a partir de 30 amostras, sendo *C. parapsilosis* em 33.3%, *C. albicans* em 13.3%, *C. tropicalis* em 13.3%, *C. glabrata* em 13.3%, *C. pulcherrima* em 6.6%, *C. famata* em 3.3% e *C. guilliermondii* em 3.3% dos casos. Em 14% dos casos positivos ao exame direto, não houve crescimento de colônias de leveduras em cultura. Não foram observados fungos filamentosos. É importante a identificação de agentes causadores de onicomicoses em unhas de manipuladores, visando a diminuição de infecções propagadas por alimentos contaminados, contribuindo com ações de vigilância sanitária.

PALAVRAS-CHAVE - *Candida parapsilosis*, Alimentos, Infecções alimentares.

SUMMARY - Diseases propagated by foods are an important problem of public health mainly in children, old-aged and immunocompromised individuals. Although the contamination of foods may have different origins, the inadequate manipulation during its processing and distribution is one of the main causes of dissemination of diseases. Nail fungus infection can contribute for installation of bacteria that may cause alimentary intoxication. The aim of this study was to demonstrate the fungal species found in nails of 50 food manipulators between 20 to 50 years old. We made KOH direct microscopy examination and culture on Sabouraud-cloranfenicol. Yeasts were identified in CHROMagar® *Candida*, microculture in glass lamina and biochemical tests. *Candida* sp was isolated from 30 samples. *C. parapsilosis* 33.3%, *C. albicans* 13.3%, *C. tropicalis* 13.3%, *C. glabrata* 13.3%, *C. pulcherrima* 6.6%, *C. famata* 3.3% and *C. guilliermondii* 3.3%. There was no growth of yeasts in 14% of the cases, besides a positive direct examination. Therefore, the identification of pathogenic agents from nails of food manipulators is important to reduced infections due to contaminated foods, contributing to Sanitary Vigilance.

KEYWORDS - *Candida parapsilosis*, Foods, Yeasts, Alimentary infections.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se observado um aumento das doenças transmitidas por alimentos, relacionado a diversos fatores, tais como expansão do comércio alimentar, aumento do consumo de alimentos industrializados ou semi-prontos, modificações dos hábitos alimentares e refeições fora do domicílio. As fontes de contaminação desses alimentos pode ser o solo, a água, as plantas, a pele dos animais, o ar, a poeira e os utensílios que devem passar por uma higienização adequada para evitar a contaminação cruzada. Entretanto, os principais responsáveis por contaminação alimentar, e consequentemente, infecções, são os agentes biológicos, representados em sua maioria por bactérias e parasitos intestinais (Notermans & Verdegaal, 1992).

A pele apresenta uma população de microrganismos que constitui a flora residente e a transitória. A flora residente, representada por microrganismos não patogênicos ou oportunistas, multiplica-se persistindo sobre a pele. Já a transitória é constituída por microrganismos depositados sobre a pele sem que ocorra colonização, sendo responsável por transportar patógenos em serviços hospitalares e de alimentação coletiva, por meio de mãos contaminadas (Almeida *et al.*, 1995; Passos *et al.*, 2000).

Os serviços de alimentação coletiva vêm aumentando cada vez mais em todo o mundo, inclusive no Brasil, e os profissionais pertencentes a estes serviços desempenham uma

função importante na preservação da higiene dos mesmos (Silva *et al.*, 2005). De acordo com a inspeção sanitária de alimentos, é considerado manipulador qualquer pessoa que esteja em contato direto ou indireto com os alimentos. As patologias fúngicas ungueais (onicomicoses) constituem uma das principais causas de enfermidades ao nível mundial, tendo aumentado sua ocorrência nos últimos anos. Geralmente estão relacionadas a condições sócio-econômicas e sanitárias, baixa higiene, idade, sexo, ocupação e profissão, como mulheres que mantêm as mãos em contato permanente com água (cozinheiras e lavadeiras) e homens que desempenham atividades como copeiros, jardineiros, manipuladores de frutas e operários de curtume (Esteves *et al.*, 1992; Araújo *et al.*, 2003).

Essa micose superficial torna-se relevante, em vista da alta frequência com que ocorre na população, além da interferência na qualidade de vida das pessoas, prejudicando o desempenho profissional e contribuindo como porta de entrada para outros microrganismos, principalmente bactérias que poderão contaminar os alimentos (Sabioni, Hirooka & Souza, 1998; Ribeiro *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2005). Portanto, é essencial identificar os principais agentes etiológicos envolvidos em micoses ungueais de profissionais de serviços de alimentação, não só pelas condições de saúde e higiene do trabalhador como também, salientar que a presença de fungos em suas unhas pode possibilitar infecções secundárias por bactérias produtoras de intoxicações alimentares.

Recebido em 28/02/2007

Aprovado em 10/07/2007

*Trabalho desenvolvido no Setor de Micologia da NKB-Diagnósticos, Recife-PE.

¹Mestranda em Medicina tropical, UFPE; ²Supervisora do Setor de Micologia da NKB-Diagnósticos/PE; ³Gestor Técnico da NKB-Diagnósticos/PE e Professor da Universidade de Pernambuco.

MATERIAIS E MÉTODOS

População estudada

Participaram do estudo 50 trabalhadores que manipulam direta ou indiretamente alimentos, como garçons, confeitadores, doceiros, padeiros, açougueiros, cozinheiros e ajudantes de cozinha.

Os profissionais foram encaminhados por médicos do trabalho para pesquisa micológica das unhas das mãos em laboratório privado de Recife – PE, no período de Agosto a Outubro de 2006.

Coleta Micológica

Foram colhidas escamas de unhas, raspadas com bisturi ou com auxílio de uma tesoura. Quando foi observado comprometimento subungueal, o material foi retirado entre o limite da unha normal e da unha afetada.

Procedimentos das amostras

O exame direto das amostras clínicas foi realizado após a clarificação com KOH a 30%, e o cultivo pelo semeio em superfície de placas de Petri contendo Agar Sabouraud com cloranfenicol (50 mg/l) e Mycosel®, evitando, assim, o crescimento de fungos filamentosos contaminantes neste meio.

As culturas foram mantidas à temperatura ambiente por 20 dias, e, quando observado crescimento fúngico, foram realizadas suspensões das colônias em água destilada com cloranfenicol (50 mg/l), visando obtenção de colônias purificadas para estudos posteriores.

A identificação do agente etiológico foi baseada no estudo de suas características morfológicas em ágar fubá acrescido de tween 80, pela técnica do microcultivo em lâmina, produção de tubo germinativo a 37°C em soro humano e provas bioquímicas convencionais, como fermentação e assimilação de carboidratos. Além disso, foi utilizado meio cromogênico (CHROMagar® *Candida*) para identificar presuntivamente *C. albicans*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* e *C. tropicalis*.

RESULTADOS

Dos 50 profissionais analisados, 38 pertenciam ao sexo masculino e 12 ao sexo feminino, com idades entre 20 e 50 anos. A presença de colonização, sintomática ou não, foi constatada em 30 (60%) das amostras ungueais, sendo 24 oriundas de unhas masculinas e 6 de unhas femininas (Figuras 1a e 1b). Ao exame direto, essas amostras apresentaram células de leveduras arredondadas, hialinas, blastosporadas e isoladas (Figura 2). Além disto, foi observada a presença de numerosas bactérias, diferentemente das amostras negativas para fungos.

Das 30 amostras positivas ao exame direto, 26 (86%) apresentaram crescimento de *Candida* sp. em Agar Sabouraud com cloranfenicol (50 mg/l). A *C. parapsilosis* foi isolada em 10 (33.3%) amostras, *C. albicans* em 4 (13.3%), *C. tropicalis* em 4 (13.3%), *C. glabrata* em 4 (13.3%), *C. pulcherrima* em 2 (6.6%), *C. famata* em 1 (3.3%) e *C. guilliermondii* em 1 (3.3%) caso (Figura 3). Em 4 (14%) casos positivos ao exame direto, não houve crescimento de colônias de leveduras em cultura (Figura 4).

Não observamos fungos filamentosos ao exame direto e cultura micológica.

Os resultados encontrados segundo a idade, sexo e atividade exercida dos manipuladores estão apresentados na Tabela 1.

TABELA I

Leveduras entre 30 manipuladores de alimentos de Recife, PE.

Manipulador N°	Sexo	Idade	Atividade Exercida	Exame direto	Cultura	Identificação de Levedura
2	M	20	cofeiro	pos	pos	<i>Candida guilliermondii</i>
2	F	44	cozinheira	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
3	M	33	garçom	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
4	M	24	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida pulcherrima</i>
5	M	40	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
6	M	27	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
7	M	30	garçom	pos	neg	-
8	M	26	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
9	F	32	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
10	M	27	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida pulcherrima</i>
11	M	28	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
12	M	35	chefe confeitaria	pos	pos	<i>Candida famata</i>
13	M	25	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
14	M	49	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
15	M	20	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
16	M	32	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
17	M	24	confeiteiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
18	M	28	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida tropicalis</i>
19	M	36	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
20	F	39	confeiteira	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
21	M	29	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
22	M	33	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
23	M	29	padeiro	pos	neg	-
24	F	26	açougueiro	pos	neg	-
25	F	48	auxiliar de cozinha	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
26	M	35	garçom	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
27	M	32	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida parapsilosis</i>
28	M	20	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida albicans</i>
29	F	28	cozinheiro	pos	pos	<i>Candida glabrata</i>
30	M	28	cozinheiro	pos	neg	-

LEGENDA: pos, positivo; neg, negativo.

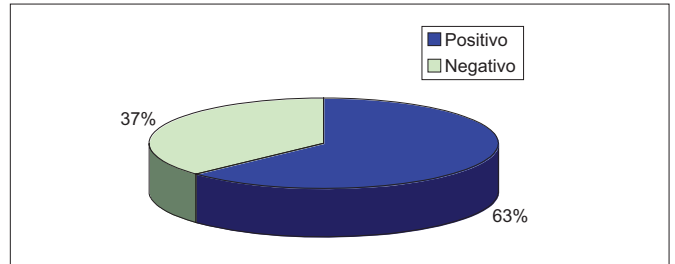


Fig. 1a - Distribuição de Casos de Onicomicose em manipuladores de Alimentos do Sexo Masculino.

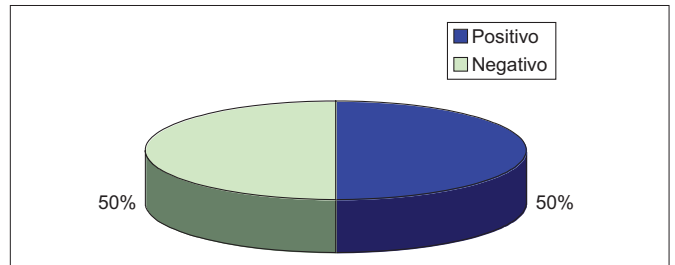


Fig. 1b - Distribuição de Casos de Onicomicose em manipuladores de Alimentos do Sexo Feminino.

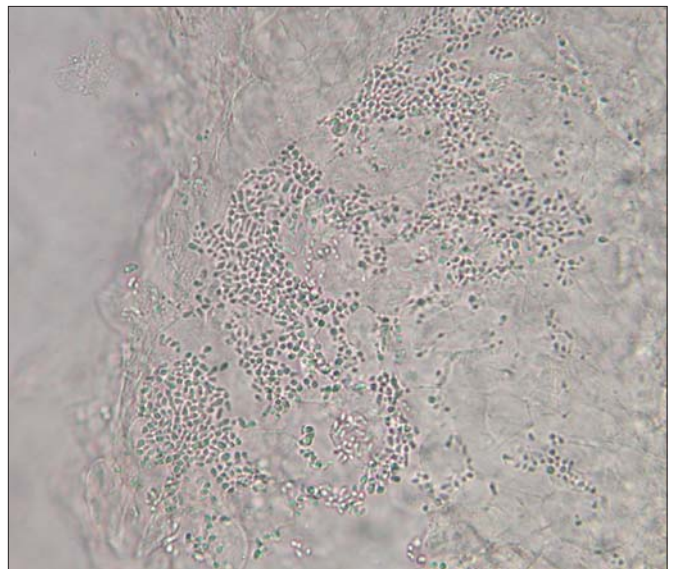


Figura 2 - Cedida por: Kedna de Magalhães Lima

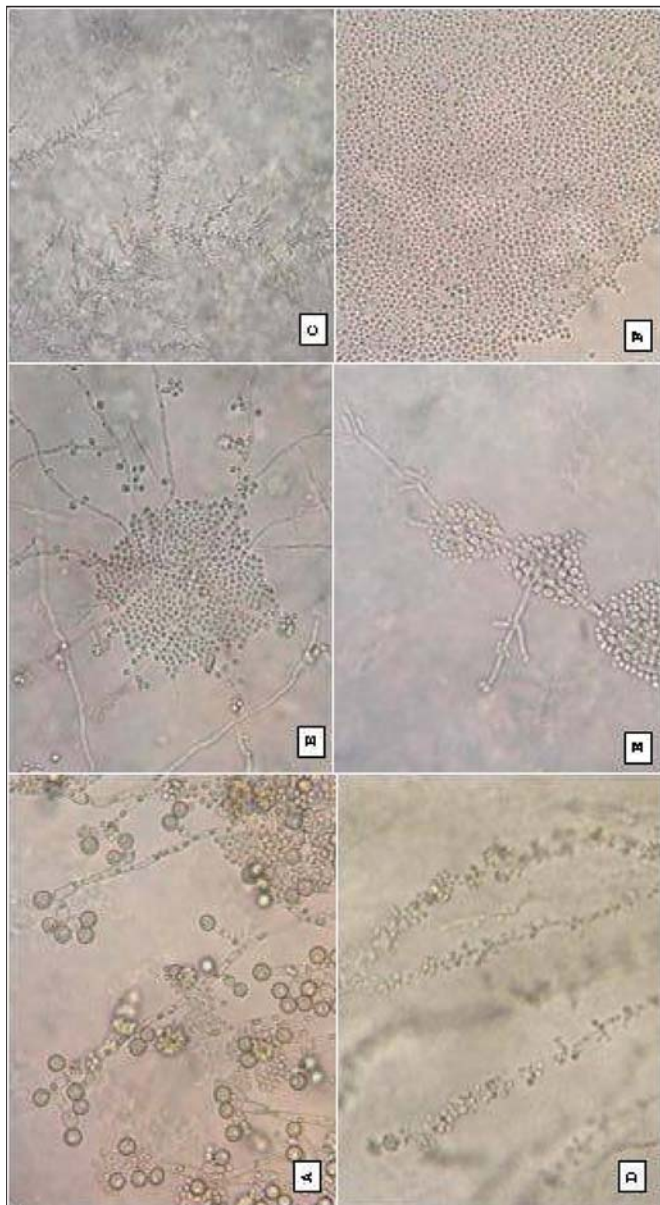


Figura 3 - Cedida por: Kedna de Magalhães Lima

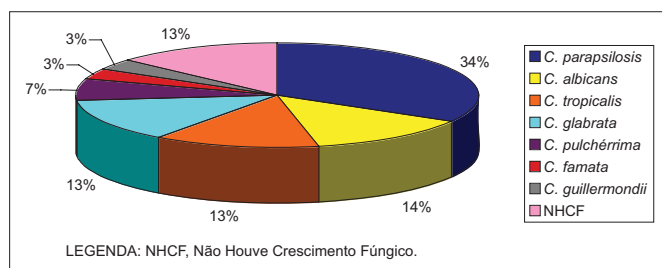


Fig. 4 - Distribuição das espécies de *Candida* isoladas em unhas das mãos de manipuladores de alimentos. A *Candida parapsilosis* representa a espécie mais isolada.

DISCUSSÃO

A higienização dos manipuladores de alimentos é essencial para a produção segura e inócua de qualquer tipo de produto alimentício. Existem muitos casos de doenças de origem alimentar apontadas atualmente pela Organização Pan-americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde

como uma das causas mais importantes de perdas de vidas humanas. Esse fato despertou uma maior atenção e motivou o fortalecimento de organizações, como o Instituto Pan-americano de Proteção de Alimentos e Zoonose (INPPAZ), que tem como objetivo fornecer cooperação técnica em inocuidade alimentar a todos os países das Américas, a fim de diminuir os riscos para a saúde da população humana, originados pelas enfermidades transmitidas por alimentos.

Os exames laboratoriais são muito importantes para prevenir, detectar e curar algumas doenças endêmicas, agudas e crônicas, permitindo manter o indivíduo em boa forma física, sem doenças transmissíveis. Os exames obrigatórios, segundo a portaria do Centro de Vigilância Sanitária, Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo (CVS-6), são exames de fezes, como a cultura e o parasitológico e exames de sangue. Além desses métodos laboratoriais, utiliza-se o exame de urina, cultura bacteriológica de secreção orofaríngea e exame micológico em escamas ungueais das mãos, para diagnosticar fungos patogênicos (Silva Junior, 1995).

No presente trabalho, 60% dos indivíduos analisados apresentaram leveduras em unhas das mãos, fato favorecido pelo contato constante com água por parte desses profissionais, propiciando a colonização e penetração do fungo (Miranda *et al.*, 2005). Da mesma forma, alguns trabalhos demonstraram que a *Candida sp.* é o principal agente de onicomicose (Ralph *et al.*, 1998; Ellabib *et al.*, 2002).

Das espécies de *Candida*, a *C. parapsilosis* se destacou entre as demais. Alguns autores, também encontraram esta espécie com maior frequência em escamas ungueais (Kurtzman & Fell, 1998; Midgley & Moore, 1998; Gautret & Rodier, 2000; Silva *et al.*, 2005). Entretanto, outros trabalhos demonstram predominância de *C. albicans* como agente de onicomicose (Lopes *et al.*, 1999; Pontes *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2005). Ambas as espécies são capazes de aderir ao leito ungueal.

Neste estudo observamos que a presença de leveduras em escamas ungueais predominou em manipuladores do sexo masculino, entretanto deve-se salientar que houve um predomínio destes na nossa amostragem.

É importante ressaltar que das 50 amostras ungueais analisadas, nos 30 casos positivos para células de leveduras em exame direto, houve também a presença de numerosas bactérias, o que demonstra uma possível infecção secundária. Segundo Silva Junior (1995), as mãos podem veicular vários microrganismos importantes como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*. A presença de qualquer um desses microrganismos no alimento pode ocasionar problemas de saúde. Segundo Franco & Landgraf (2003), a *E. coli* pode ocasionar vários sintomas entre eles febre alta, diarreia, dores abdominais e vômito, podendo ser mais grave em crianças e idosos. *Staphylococcus aureus* causa náuseas, cólicas abdominais, diarreias, sudorese, podendo até ser fatal. *Bacillus cereus* pode causar diarreia intensa, vômito, náusea e mal estar.

Em 14% dos casos estudados com exame direto positivo, não houve crescimento fúngico, isto pode estar relacionado à presença de bactérias nas amostras clínicas. Alguns trabalhos relatam a interação entre espécies de *Candida* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esta atua formando um denso biofilme sobre as estruturas filamentosas de *Candida* impedindo o seu crescimento (Hogan & Kolter, 2002). Desta forma, sugerimos a utilização de antimicrobianos de maior espectro adicionados aos meios seletivos para cul-

tura de leveduras, evitando o crescimento de bactérias resistentes que possam impedir o desenvolvimento de importantes leveduras.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que as espécies de *Candida* são muito freqüentes em unhas de manipuladores de alimentos, fato que pode ser explicado pelo contato constante das mãos desses profissionais com água e alimentos. Além disso, a presença de leveduras pode favorecer o aparecimento de infecções secundárias, sugerido pela presença de numerosas bactérias observadas ao exame direto das escamas ungueais desses profissionais.

Do ponto de vista de saúde pública é importante a identificação de portadores de agentes patogênicos implicados na propagação de infecções alimentares através da manipulação. Desta forma, reforçamos a necessidade do cumprimento das normas recomendadas pelos Centros de Vigilância Sanitária.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, R.C.C.; KUAYE, A.Y.; SERRANO, A.M.; ALMEIDA, P.F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. *Revista de Saúde Pública*, v. 29, n. 4, p. 290-294, 1995.
2. ARAÚJO, A.J.G.; SOUZA, M.A.J.; BASTOS, O.M.; OLIVEIRA, J. Onicomioses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 445-455, 2003.
3. ELLABIB, M.S.; AGAJ, M.; KHALIFA, Z.; KAVANAGH, K. Yeasts of the genus *Candida* are the dominant cause of onychomycosis in Libyan women but not men: results of a 2 year surveillance study. *Brit J Dermatol*, v. 146, p.1038-1041, 2002.
4. ESTEVES, J.A.; BAPTISTA, A. P.; RODRIGO, F. G. *Dermatologia*. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2 ed, 1643 p., 1992.
5. FRANCO, B.D.G. M; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo, editora Atheneu, 182 p. 2003.
6. GAUTRET P, RODIER MH, LACROIX KC, JACQUEMIN JL. Case Report and Review. Onychomycosis due to *C. parapsilosis*. *Mycoses*, v. 43, p. 433-435, 2000.
7. HOGAN, D.A.; KOLTER, R. *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science*, v.296, p. 2229-2232, 2002.
8. KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. *The yeast's: a taxonomic study*, 4 Ed. Elsevier,

New York., p. 919-925, 1998.

9. LOPES, J.O.; ALVES, S.H.; MARI, C.R. et al. A ten-year survey of onychomycosis in the central region of the Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop*, v. 41, p.147-149, 1999.
10. MIDGLEY G, MOORE MK. Onychomycosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, Barcelona, v. 15, p. 113-117, 1998.
11. MIRANDA, K.C.; ARAUJO C.R.; KHRAIS, C.H.A.; LEMOS, J.A.; COSTA, C.R.; SOUZA, L. K. H.; PASTOS, X.S.; FERNANDES, O.F.L.; SILVA, M.R.R. Identificação de leveduras do gênero *Candida* nas unhas e em descamação de pele em Goiânia (GO), durante o ano de 2003. *Revista de Patologia Tropical*, v. 34, n. 2, p. 123-128, 2005.
12. NOTERMANS, S.; VERDEGAAL, A. H. Existing and emergin foodborne diseases. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdã, v. 15, p. 197-205, 1992.
13. PASSOS, X.S; SOUZA, L.H.; COSTA, M. ; COSTA, C.R. ; FERNANDES, O.F.L. ; SILVA, M.R.R. Incidência de leveduras nas mãos de trabalhadores do serviço pediátrico do hospital materno-infantil de goiânia-GO. *Revista de Patologia Tropical*, v. 29, n. 2, p. 197-203, 2000.
14. PONTES, Z.B.; LIMA EDE, O.; OLIVEIRA, N.M.; DOS SANTOS J.P.; RAMOS, A.L.; CARVALHO, M.F. Onychomycosis in João Pessoa city, Brazil. *Rev Argent Microbiol*, v. 34, p. 95-99, 2002.
15. RALPH, D.C.; ADITYA, G.K.; MELISSA, D.P.; SABRA, S. *Candida* infection of the nail: role of *Candida* as a primary or secondary pathogen. *Internat J Dermatol*, v. 37, p. 904-907, 1998.
16. RIBEIRO, E.G.A.; MARTINS, A.M.B.; OLIVEIRA MA, SILVA P, ERRERA MC, CARLONI MC ET AL. Identificação do agente causal de um surto de intoxicação alimentar. *Hig Alim*, v.13, p. 88-90, 1999.
17. SABIONI, J.G.; HIROOKA, E.Y.; SOUZA, M.L.R. Intoxicação alimentar por queijo minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. *Rev Saúde Pública*, v. 22, p. 458-61, 1998.
18. SILVA, J. O.; CAPUANO, D.M.; TAKAYANAGUI, O.M.; GIACOMETTI JR., E. Enteroparasitoses e onicomioses em manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 8, n. 4, p. 385-92, 2005.
19. SILVA JUNIOR, E. A. *Manual do controle higiênico-sanitário em alimentos*. São Paulo, editora Varela, 4° ed, 1995.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Kedma de Magalhães Lima
Rua Paes Cabral, nº 379, Apt. 02, Cordeiro
CEP: 50630-170 Recife-PE
E-mail: kedma.biom@gmail.com
Fone: (81) 3226-9079

IFCC WORLDBLAB

Fortaleza - Brasil

20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial
35º Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
8º Congresso Brasileiro de Citologia Clínica

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:

Centro de Convenções do Ceará

Promoção e Realização

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS