



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA
ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PRESENÇA DE MICRORGANISMOS EM ÓLEOS DE CORTE E SUA RELAÇÃO COM A SAÚDE OCUPACIONAL

Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de mestre em Saúde Ambiental.

Por: Mariana Augusta Neves da Silva Carvalho

Sob orientação de: Prof. Doutora Paula Lima Castro e Dr. José Manuel Rocha Nogueira

Setembro 2011

RESUMO

Os colaboradores de empresas do sector metalúrgico e metalomecânico utilizam óleos de corte, ou fluidos de corte durante o processo produtivo, com o objectivo de facilitar a operação de corte. Estes óleos oferecem perigosidade à saúde humana e ao meio ambiente.

A contaminação microbiológica, nomeadamente por bactérias e fungos, nos óleos emulsionados é uma preocupação constante, pois estas podem provocar problemas na saúde dos colaboradores, incluindo dermatoses. O enfraquecimento das unhas constitui um sinal/sintoma deste problema.

Neste contexto, e uma vez que são escassos os dados referentes a infecções fúngicas superficiais em colaboradores das metalomecânicas em Portugal, são necessários estudos que permitam determinar a sua prevalência e relação com a utilização de óleos de corte.

No período compreendido entre 02 de Agosto de 2007 e 09 de Novembro de 2007 efectuaram-se colheitas de pele e/ou de unhas em duas populações diferentes de metalomecânicas (A e B) e dos diferentes óleos contidos nas máquinas das metalomecânicas e utilizados pelos colaboradores. Posteriormente, efectuaram-se análises laboratoriais micológicas nos Laboratórios da ESB.

Do total de óleos (n = 17), houve confirmação de presença de fungos (culturas positivas) em 14 culturas (82%), sendo 9 óleos da Indústria Metalomecânica A (82%) e 5 (80%) da Metalomecânica B. Em 3 meios (18%) as culturas foram negativas. Desses, 2 (18%) pertenciam à Metalomecânica A e 1 (20%) pertencia à Metalomecânica B.

Do total de indivíduos (n = 205), houve confirmação micológica de dermatomicoses (culturas positivas) em 176 culturas (86%). Em 29 casos (14%) os resultados foram negativos.

De um total de 175 indivíduos com culturas positivas, 61 (35%) apresentam sinal de dermatoses – só culturas positivas.

Os fungos mais frequentes nos óleos de corte foram também os mais frequentes nas unhas: *Rhodotorula mucilaginosa* e *Pichia guilliermondii*.

Não foi possível avaliar com exactidão se a exposição a óleos de corte provoca a ocorrência de dermatoses.

Palavras chave: óleos de corte; dermatomicoses; fungos.

ABSTRACT

Employees of companies in the metallurgical and mechanical sector use cutting oil or cutting fluids during the production process, in order to facilitate the cutting operation. These oils offer danger to human health and the environment.

Microbiological contamination, particularly by bacteria and fungi, in emulsified oils is a concern, as these can cause health problems in employees, including dermatoses. The weakening of the nails is a sign / symptom of this problem.

In this context, and since data concerning superficial fungal infections in employees of metalworking is scarce in Portugal, there is a need to determine its prevalence and relation to use of such cutting oils

Between 02 August and 09 November 2007 samples of skin and / or nails of two different populations of metalworking plants (A and B) and different oils contained in the metalworking machinery and used by employees were collected and analysed for mycological contamination at ESB Labs.

Of the total oil samples (n = 17), there was confirmation of the presence of fungi (positive cultures) in 14 cultures (82%), with 9 oils used in the Metalworking A (82%) and 5 (80%) used in the Metalworking B. In three samples (18%) the cultures were negative (or inconclusive). Of these, two (18%) were oils from Metalworking A and one (20%) was from Metalworking B.

Of the total nail/skin samples analysed (n = 205), there was mycological confirmation of dermatomycoses (positive cultures) in 176 cultures (86%). In 29 samples (14%) the cultures were negative.

Of the total of 175 individuals with positive cultures, 61 (35%) had signs of skin diseases - only positive cultures.

The most common fungi in cutting oils were also the most frequent nails: *Rhodotorula mucilaginosa* and *Pichia guilliermondii*.

It was not possible to accurately assess whether exposure to cutting oils causes the occurrence of skin diseases.

Key words: cutting oils; dermatomycoses; fungi.

ÍNDICE GERAL

RESUMO	3
ABSTRACT	4
ÍNDICE GERAL	5
ÍNDICE DE QUADROS	8
ÍNDICE DE FIGURAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	10
AGRADECIMENTOS	11
I – INTRODUÇÃO	12
1.1. AMBIENTE E SAÚDE OCUPACIONAL	13
1.2. INDÚSTRIA METALOMECÂNICA	14
1.3. ÓLEOS DE CORTE	17
1.4. DERMATOSES OCUPACIONAIS	21
2. MICOSES	23
2.1. CLASSIFICAÇÃO DAS MICOSES	24
2.2. DERMATOMICOSES DA PELE	25
2.3. DERMATOMICOSES DAS UNHAS	25
2.4. FACTORES PREDISPONETES DE DERMATOMICOSES	26
2.4.1. FACTORES EXTRÍNSECOS	26
2.4.2. FACTORES INTRÍNSECOS	27
3. FUNGOS DERMATÓFITOS	27
3.1. MORFOLOGIA MACROSCÓPICA	28

3.2. PATOGENIA DOS FUNGOS DERMATÓFITOS E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DO HOSPEDEIRO	28
3.3. EPIDEMIOLOGIA	29
4. OUTROS FUNGOS FILAMENTOSOS POTENCIALMENTE QUERATINOFÍLICOS.....	31
5. FUNGOS LEVEDURIFORMES	32
5.1. MORFOLOGIA, REPRODUÇÃO, POSIÇÃO TAXONÓMICA E ECOLOGIA	32
5.2. GÉNERO <i>CANDIDA</i>	33
5.2.1. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA	33
5.2.2. POSIÇÃO TAXONÓMICA	34
5.2.3. MORFOLOGIA	34
5.2.4. REPRODUÇÃO	35
5.2.5 FISIOLOGIA	36
5.2.6. CANDIDÍASE	36
5.2.6.1. QUADROS CLÍNICOS	37
5.2.6.2. PATOGENIA E SUSCEPTIBILIDADE PARA A INFECÇÃO	37
5.2.6.3 DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO	38
II – OBJECTIVOS DO ESTUDO	39
1. MATERIAL E MÉTODOS	39
1.1. POPULAÇÕES ESTUDADAS	39
1.2. MATERIAL DE ESTUDO	41
1.3. COLHEITAS	41
1.4. PESQUISA DIRECTA	42

1.4.1. EXAME MACROSCÓPICO	42
1.5. MÉTODO CLÁSSICO DE ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E DE FUNGOS LEVEDURIFORMES	43
1.5.1. CULTURAS	43
1.6. MÉTODO CLÁSSICO DE IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS	46
1.7. MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS LEVEDURIFORMES	47
1.8. MÉTODO DE REPICAGEM	47
1.9. IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ISOLADOS	48
2. APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS	49
2.1. AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE FUNGOS NOS ÓLEOS DE CORTE DAS METALOMECÂNICAS A E B	49
2.2. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE FUNGOS NA POPULAÇÃO DE COLABORADORES DAS METALOMECÂNICAS	50
2.3. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE SINAIS NA POPULAÇÃO DE COLABORADORES DAS METALOMECÂNICAS CARACTERIZADAS COMO CULTURAS POSITIVAS	50
2.4. ESPÉCIES DE FUNGOS ISOLADOS NOS COLABORADORES DAS METALOMECÂNICAS E NOS ÓLEOS	52
3. DISCUSSÃO DE RESULTADOS	54
4. CONCLUSÕES	55
BIBLIOGRAFIA	57
ANEXO I	63

ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 1 – Descrição das principais características químicas dos óleos.	18
QUADRO 2 – Avaliação da presença de fungos nos óleos.	49
QUADRO 3 – Avaliação da presença de fungos na população por Metalomecânica A e B.	50
QUADRO 4 – Avaliação da presença de sinais nas populações caracterizadas como culturas positivas por Metalomecânica A e B.	52
QUADRO 5 – Espécies de fungos isolados nos colaboradores das metalomecânicas e nos óleos.	53
QUADRO 6 – Sinais nos colaboradores com presença das espécies de fungos isolados encontrados nos colaboradores e nos óleos das 2 metalomecânicas	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 – Aspecto de um óleo de corte	17
Fig. 2 – Aspecto de uma placa contendo uma amostra de unha	43
Fig. 3 – Aspecto de uma placa contendo uma amostra de óleo	43
Fig. 4 – Aspecto de uma cultura negativa	45
Fig. 5 – Aspecto de uma cultura positiva	45
Fig. 6 – Isolamento dos fungos em cultura pura	48
Fig. 7, 8, 9 e 10 – Sinais nas mãos e unhas dos colaboradores da Metalomecânica A	51
Fig. 11, 12 13 e 14 – Sinais nas mãos e unhas dos colaboradores da Metalomecânica B	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

PME's – Pequenas e médias empresas

CAM (computer-aided manufacture)

CAD (computer aided Design)

HSM (High – Speed Machining)

CMM – Coordinate Measurings Machines

pH – Coeficiente que caracteriza a acidez ou basicidade de um meio (p = potencial; H = hidrogénio)

BLAST – “Basic Local Alignment Search Tool”

ncbi – National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov).

g – Grama

° C – Graus *Celsius* (centígrados)

KOH – Hidróxido de potássio

h – Hora

= – Igual a

Mm – Micra; micro

µg – Micrograma

µl – Microlitro

mg – Miligrama

ml – Mililitro

mm – Milímetro

min. – Minuto

KNO₃ – Nitrato de potássio

N^o; n – Número

® – Patente registada

% – Percentagem

Mg²⁺ – Símbolo químico do magnésio

K⁺ – Símbolo químico do potássio

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

AGRADECIMENTOS

Desde o início do mestrado contei com a confiança e o apoio de inúmeras pessoas e instituições. Sem estes contributos esta investigação não teria sido possível.

À Prof. Doutora Paula Castro e ao Dr. Rocha Nogueira, orientadores desta dissertação, agradeço o apoio, confiança, disponibilidade e o estímulo que me proporcionaram.

À Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa pela disponibilidade de todos os meios necessários à realização das análises laboratoriais.

A todos os colegas com quem me fui cruzando no laboratório, o meu obrigada, em especial à Nadine Sousa pela amizade construída ao longo deste projecto. Todos os momentos de trabalho conjunto, a disponibilidade, os conselhos e ensinamentos foram essenciais na concretização deste trabalho. Pelo crescimento pessoal e profissional conquistado e partilhado o meu mais sincero agradecimento.

Às empresas que me deram livre trânsito para recolher todos os dados e informação imprescindíveis à realização desta dissertação.

A todos os colaboradores, uma agradecimento muito especial por terem aceite participar neste estudo.

A todos os meus amigos e familiares que me apoiaram ao longo deste processo aceitando as minhas ausências.

À minha família, em especial aos meus Pais, pelo apoio incondicional e compreensão nos momentos maior indisponibilidade.

Ao Vitor, agradeço com um carinho muito especial a presença, partilha e principalmente a compreensão e incentivo fundamentais no desenvolvimento deste projecto.

O meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

I – INTRODUÇÃO

O sector metalúrgico e metalomecânico é um dos sectores industriais mais representativos a nível nacional, representando cerca de 90% das unidades PME's [1] gerando cerca de 20% do volume de negócios desta indústria [2].

Estima-se que o sector seja constituído por mais de 15.000 empresas, com cerca de 150.000 trabalhadores, representando cerca de 15% do PIB nacional [1].

A actividade económica deste sector, realizada principalmente por pequenas empresas, é composta por 5 principais subsectores: indústrias básicas de ferro e aço (CAE 27510 e CAE 27520), indústrias básicas de metais não ferrosos (CAE 27540), fabricação de produtos metálicos (CAE 28), fabricação de máquinas não eléctricas (CAE 29) e fabricação de material de transporte (CAE 34 e CAE 35).

O subsector da fabricação de produtos metálicos é de longe aquele que inclui maior número de empresas (71,3%), seguido dos subsectores da fabricação de máquinas não eléctricas (21,3%) e da fabricação de material de transporte (6,2%). Com menor expressão, em termos de números de empresas, surgem finalmente os subsectores das indústrias básicas de metais não ferrosos (1,1%) e das indústrias básicas de ferro e aço (0,09%) [4].

Relativamente à distribuição geográfica das empresas, verifica-se que a maioria das empresas deste sector se situa nas regiões Norte e Vale do Tejo, com percentagens de, respectivamente, 39,3 e 30,1%. A percentagem das empresas que se encontram implantadas nas regiões do Algarve, Alentejo e Regiões Autónomas não é muito significativa [4].

Relativamente às zonas do país onde se verifica a existência de uma concentração superior de empresas deste sector – Norte e Lisboa e Vale do Tejo – constata-se que a incidência de empresas dos subsectores das indústrias básicas de ferro e aço é superior na região Norte e a incidência de empresas do subsector da fabricação de máquinas não eléctricas é mais elevada na região de Lisboa e Vale do Tejo [4].

Verifica-se que, no enquadramento nacional do sector metalúrgico, este sector tem vindo a acompanhar as evoluções internacionais quer a nível tecnológico quer a nível de exigências ambientais e de promoção da saúde ocupacional.

O sector metalúrgico e metalomecânico abrange uma diversidade considerável de actividades e processos produtivos o que abrange um largo espectro de problemas ambientais e da saúde ocupacional.

1.1. AMBIENTE E SAÚDE OCUPACIONAL

O Ambiente e a Saúde Ocupacional são novas áreas de estudo em ascensão.

A Saúde Ocupacional define-se como uma área de intervenção prioritária que tem como principal objectivo valorizar o local de trabalho como espaço privilegiado para a prevenção primária dos riscos ocupacionais, a protecção e promoção da saúde e o acesso aos serviços de saúde dos trabalhadores.

A Saúde Ocupacional ou Saúde no Trabalho abrange dois ramos, o dos Acidentes de trabalho e o das Doenças profissionais.

“A definição de acidente de trabalho está estipulada no Decreto-Lei nº 99/2003, de 27 de Agosto, artigos 281 a 301. É acidente de trabalho o sinistro, entendido como acontecimento súbito e imprevisto, sofrido pelo trabalhador que se verifique no local e no tempo de trabalho.

Considera-se também acidente de trabalho o ocorrido:

- No trajecto de ida e de regresso para e do local de trabalho nos termos definidos em regulamentação específica;

- Na execução de serviços espontaneamente prestados e de que possa resultar proveito económico para a entidade empregadora;

- No local de trabalho, quando no exercício do direito de reunião ou de actividade de representante dos trabalhadores, nos termos da lei;

- No local de trabalho, quando em frequência de curso de formação profissional, ou fora do local de trabalho, quando exista autorização expressa da entidade empregadora para tal frequência;

- Em actividade de procura de emprego durante o crédito de horas para tal concedido por lei aos trabalhadores com processo de cessação de contrato de trabalho em curso;

- Fora do local ou do tempo de trabalho, quando verificado na execução de serviços determinados pela entidade empregadora ou por esta consentidos.

Os acidentes de trabalho mais frequentes em Portugal são as quedas e os soterramentos, sendo que as principais causas destes acidentes são não seguir as regras de segurança e não utilizar os dispositivos de segurança ou utilizá-los de forma desadequada.

Podem também contribuir para o surgimento de acidentes de trabalho:

- A ingestão de bebidas alcoólicas;

- As hipoglicémias, que podem provocar lipotímias (desmaios) por falta de alimentação. Por exemplo, quando os trabalhadores não tomam o pequeno-almoço;

- A fadiga, por não se ter dormido o suficiente ou quando se trabalha por turnos, em especial se o trabalho incluir lidar com máquinas perigosas.” (in www.min-saude.pt)

“Doença profissional é aquela que resulta directamente das condições de trabalho, consta da Lista de Doenças Profissionais (Decreto Regulamentar n.º 76/2007, de 17 de Julho) e causa incapacidade para o exercício da profissão ou morte.

A Lei também considera que a lesão corporal, a perturbação funcional ou a doença não incluídas na lista serão indemnizáveis, desde que se provem serem consequência, necessária e directa, da actividade exercida e não representem normal desgaste do organismo (Código do Trabalho, n.º 2 do art. 310).

As doenças profissionais em nada se distinguem das outras doenças, salvo pelo facto de terem a sua origem em factores de risco existentes no local de trabalho.” (in www.min-saude.pt)

Em comparação com os acidentes de trabalho as doenças profissionais resultam do exercício de uma actividade profissional e são, normalmente, caracterizadas como sendo de aparecimento súbito e de lento e progressivo desenvolvimento. São originadas por agentes nocivos a que os trabalhadores estão expostos durante o tempo e no local de trabalho, o que se pressupõe uma exposição contínua ou habitual.

1.2. INDÚSTRIA METALOMECÂNICA

O estudo verte-se em duas empresas das áreas do sector metalúrgico e metalomecânico: Tornearia (PME) – designada por Metalomecânica B – e Produção de moldes em aço e injeção de termoplástico (Multinacional/Mundial) – designada por Metalomecânica A.

A tornearia – designada por Metalomecânica B – é um processo de fabricação mecânica onde a peça acabada é obtida através do desgaste de varões de metal – matérias-primas (remoção de aparas de metal de uma peça bruta), utilizando ferramentas adequadas.

A tornearia confere à peça uma precisão dimensional e um acabamento superficial que não podem ser obtidos por nenhum outro processo de fabricação.

É por este motivo que a maioria das peças, mesmo quando obtidas através de outros processos, recebe o acabamento através de tornearia.

Quanto maior for o grau de precisão exigido no acabamento, mais sofisticado se torna o processo de tratamento e, portanto, com mais custos.

É possível executar-se a remoção de aparas de metal através de trabalho manual (limagem, serragem, etc.) ou por meio de trabalho mecânico executado por máquinas que usam ferramentas apropriadas para a execução de cada etapa do processo de fabricação de uma peça.

Essas máquinas são conhecidas como “Máquinas operatrizes” ou “Máquinas-ferramentas” e podemos destacar como principais as seguintes: tornos, fresas, furadoras e rectificadoras.

O torneamento é um processo de fabrico comum nas metalomecânicas, indústrias de transformação do metal.

Durante o processo de torneamento há:

- Aumento da temperatura no processo;
- Queda de rendimento da ferramenta;
- Perda de precisão dimensional e de forma da peça;
- Aumento do teor de partículas na atmosfera;
- Sobreaquecimento das matérias-primas com dificuldade de adquirir a forma adequada;
- Maior risco de formar arestas “vivas” (ou rebarbas).

A Produção de moldes em aço e injeção de termoplástico – designada por Metalomecânica A – é um dos métodos mais importantes utilizado para dar uma determinada forma aos materiais termoplásticos. É um processo fácil de automatizar e tem grande importância económica. As suas principais vantagens são, relativamente a outros processos, de as peças poderem ser produzidas de maneira mais económica, em grandes volumes e com poucas operações de acabamento – método de produção em série.

A tecnologia e equipamentos associados a este processo por injeção estão, continuamente, em desenvolvimento, em particular na área de controlo do processo, permitindo a produção de peças com diferentes tamanhos e de complexidade variável.

Esta indústria serve vários processos de produção/fabricação de peças; no caso da produção dos moldes, que são geralmente metálicos para dar origem à forma da peça projectada, deve ser acompanhada pelas necessidades da peça final como a complexidade da geometria e o seu desenho. Todos os processos estão em constante desenvolvimento, bem como a evolução dos métodos de fabrico de moldes e das ferramentas para a sua produção.

Toda esta evolução é acompanhada pelo computador, este tem sido o maior impulsionador na engenharia de produção, quer na função de armazenamento quer na função de controlo de informações, através da introdução de novos conceitos como o CAM (computer-aided manufacture) auxilia via computador a preparação da produção, e CAD (computer aided Design) desenho/projecto assistido por computador. Outro sistema utilizado no fabrico de moldes é a simulação assistida por computador. Desta forma o operador pode adequar o molde exactamente às tolerâncias exigidas pela peça sem risco de desperdício do material e contabilizando o processo efectivo de contabilização do molde. Todas estas tecnologias possibilitam uma obtenção de um molde com uma qualidade superior quanto à superfície e à forma.

O material do molde deve ser escolhido de acordo com as características da peça e do processo seguinte ao qual vai ser submetido (várias fases que compõem o processo produtivo ou fabricação). As características desejáveis para fabricação do molde são:

- Maquinagem (ou maquinação);
- "Soldabilidade" (soldadura);
- Reprodutibilidade;
- Estabilidade dimensional;
- Mínimo risco e complexidade

Sendo que a maquinagem ocupa um especial lugar nesta listagem e daí se desenvolverem cada vez mais ferramentas para a optimização deste processo. A maquinagem ocupa, então, um lugar de destaque no fabrico de moldes, relativamente aos custos ou ao tempo despendido para esta operação. Os principais influenciadores desta operação são a composição química do material, a estrutura e a dureza do aço.

Os processos de maquinação mais utilizados para fabrico de moldes são por fresagem, rectificação, electro-erosão (utilizado principalmente para pequenas remoções de material na superfície da peça). Nos moldes de injeção a maior preocupação é a superfície pois o molde necessita de qualidade superficial acima da média. Embora a maquinagem por electro-erosão

seja um processo recente e eficaz, o futuro aponta para a fresagem, a utilização HSM (High – Speed Machining) combina a remoção de grandes quantidades de material com qualidade superficial de excelência, e com o desenvolvimento dos materiais e das ferramentas de corte será possível o fabrico de moldes directamente do aço endurecido.

O processo de maquinagem está em constante evolução e sempre com apoio da tecnologia por computadores. Por exemplo, devido à irregularidade da superfície maquinada a medição manual é muito difícil, isto é, é concretizada mas não é rigorosa, a pensar nisso foram desenvolvidos equipamentos electrónicos que permitem medir rigorosamente ao longo da maquinação. Os equipamentos mais conhecidos são as máquinas de medição de coordenadas (CMM – Coordinate Measurements Machines) que anotam as medições da superfície e comparam com a geometria original representada pelo modelo CAD. Programando o CMM off-line a operação de verificação desde o desenho até ao molde final, assegurando a qualidade dimensional.

Para ajuda dos processos de tornearia e de produção de moldes em aço e injeção de termoplástico, nomeadamente ao acabamento do produto final, é necessário recorrer à utilização de óleos de corte, também designados por fluidos de corte.

1.3. ÓLEOS DE CORTE

Óleos de corte, ou fluidos de corte, são líquidos e gases aplicados na ferramenta e no material que está a ser torneado, com o objectivo de facilitar a operação de corte.

Funções do óleo de corte:

Melhorias funcionais:

- Redução do coeficiente de atrito entre a ferramenta de maquinação e a matéria-prima;
- Refrigeração da ferramenta e da peça;
- Limpeza da superfície de saída;
- Melhor acabamento superficial da peça;
- Refrigeração da máquina operatriz.

Melhorias económicas:

- Redução da energia de corte;
- Redução do custo de ferramenta;
- Impedimento de corrosão da peça.

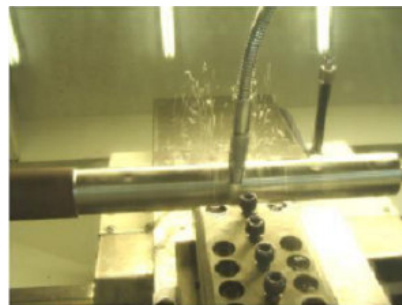


Fig. 1 – Aspecto de um óleo de corte.

Existem dois grandes tipos de óleo de corte: os integrais e os solúveis (emulsões e semi-sintéticos):

-óleos integrais: são os óleos de petróleo refinados (por isso possuem alta lubrificação e baixa solubilidade em água) ou de origem animal, marinha, vegetal ou sintética, que podem ser usados em conjunto com aditivos;

-emulsões: são combinações dos óleos e dos emulsificantes à base de lubrificante que podem incluir aditivos e biocidas. Os óleos solúveis são diluídos em água em concentrações variadas;

-óleos semi-sintéticos: são emulsões dos óleos minerais com água e os elementos químicos encontrados no óleo sintético.

QUADRO 1 – Descrição das principais características químicas dos óleos.

População Metalomecânicas			
Óleos Metalomecânica A		Óleos Metalomecânica B	
Nº	Características Químicas	Nº	Características Químicas
1A	Óleo mineral de refinação elevada.	1B	Óleo mineral de refinação elevada a 6% + água (emulsão).
2A	Óleo mineral de refinação elevada.	2B	Óleo mineral de refinação elevada a 8% + água (emulsão).
3A	Solvente de hidrocarbonetos + óleo mineral altamente refinado.	3B	Óleo mineral de refinação elevada a 15% 94% água (emulsão).
4A	Óleo mineral de refinação elevada.	4B	Óleo mineral de refinação elevada a 15% + água (emulsão).
5A	Óleo mineral de refinação elevada.	5B	Óleo mineral de refinação elevada a 4% + água (emulsão).
6A	Óleo mineral de refinação elevada.	6B	Óleo mineral de refinação elevada.
7A	Óleo mineral de refinação elevada a 6% + 94% água (emulsão).		
8A	Óleo mineral de refinação elevada.		
9A	Óleo mineral de refinação elevada (EG1-2).		
10A	Óleo mineral de refinação elevada.		
11A	Mistura de todos os óleos para tratamento final		

O manuseamento dos óleos de corte por parte dos colaboradores, como o manuseamento de qualquer produto químico, requer muitos cuidados:

- Evitar o contacto entre o óleo e a pele;
- Evitar danos à pele pelo contacto com as aparas e com ar comprimido;
- Utilizar luvas sempre que possível. Não sendo possível utilizar creme protector/repelente de óleo;
- Usar roupas protectoras;
- Não utilizar bactericida em concentração acima da recomendada;
- Usar creme condicionador para substituir a camada protectora natural de gordura removida da pele.

Os óleos de corte são essenciais para a produção de peças na indústria metalomecânica. Porém, devido ao seu elevado custo e, principalmente, à perigosidade que oferece à saúde humana e ao meio ambiente, há uma tendência mundial de redução da utilização desses fluidos e/ou da substituição por outros menos nocivos, mas que se têm verificado menos eficazes o que torna tecnicamente inviável a sua eliminação.

Devido ao aumento do consumo/utilização de óleos de corte nos processos de torneamento e produção de moldes têm sido cada vez mais estudados os problemas que poderão trazer para a saúde dos trabalhadores e as formas mais seguras para que estes executem as suas tarefas.

Com o objectivo de evitar problemas com os óleos de corte dever-se-ão seguir algumas regras básicas na sua utilização e cuidados em relação à segurança como nunca manusear o fluido num local sem ventilação, evitar o contacto com a pele e, sempre que o mesmo entrar em contacto com a pele, lavar o local de contacto abundantemente, é também recomendado trabalhar com máscara de protecção e luvas de segurança (estas indicações gerais não dispensam a consulta das fichas técnicas e fichas de dados de segurança de cada produto ou mistura).

Dentre os problemas que os fluidos podem trazer à saúde dos trabalhadores, os principais seriam os dermatológicos e respiratórios (Howes et al., 1991). Já o cancro, que seria a pior das doenças causadas pelos fluidos à base de óleo, pois muitos deles são compostos por substâncias potencialmente carcinogénicas, não tem sido considerado como doença provocada pela exposição ao óleo.

Se o óleo de corte for utilizado e manuseado de forma correcta é pouco provável que este traga problemas de saúde para os trabalhadores e para o meio ambiente considerando que este obedece a todas as normas de segurança quanto à utilização e a todas as leis ambientais.

“O fluido de corte tem efeitos indesejáveis: pode gerar alergias ou outros problemas de saúde ao operador da máquina pelo contacto com a pele ou pela inalação dos seus vapores durante anos; deteriora porque adquire fungos e bactérias, o que exige tratamento periódico, e mesmo assim precisa de tempo em tempo ser reciclado, pois não pode ser descartado no solo. As grandes empresas mantêm sistema de reciclagem; outras precisam entregar o fluido de corte para empresas certificadas (...). Isto tem custos. Portanto, a utilização do fluido de corte gera efeitos colaterais na área da saúde, na área ecológica e na área económica.” (Professor Anselmo Eduardo Diniz, do Departamento de Engenharia de Fabricação da Faculdade de Engenharia Mecânica (FEM) da Unicamp)

A contaminação por microrganismos, nomeadamente bactérias e fungos, nos óleos emulsionados é uma preocupação constante da indústria, pois acarreta problemas como o mau odor, diminuição do pH, quebra da emulsão e corrosão além da formação de biofilme nas paredes dos tanques, aumentando a corrosão nas paredes produzindo biomassa, provocando ainda problemas na saúde dos colaboradores tais como dermatoses.

Esses fluidos geralmente contêm vários aditivos, incluindo emulsificantes, biocidas, agentes antiespumantes e inibidores de corrosão. Esses complementos são utilizados, principalmente, para conter o ataque microbiano. As contaminações em fluidos de corte por bactérias e fungos podem ser definidas como quaisquer alterações que afectem a sua utilidade. Nos sistemas refrigerados os fungos podem aparecer como uma “única célula” ou como um filamento. As bactérias reduzem a qualidade e a eficácia do fluido. Uma das causas de contaminação é a água utilizada para diluir o óleo.

Segundo PASSMAN (1988), existem quatro factores que influenciam o crescimento microbiano nos fluidos de corte, sendo eles:

1 – Origem da energia: pela luz (fotossintéticos) ou pela quebra de moléculas orgânicas (oxigênio, sulfato);

2 – Nutrientes: componentes orgânicos e sais minerais.

3 e 4 – Meio ambiente e pH: as bactérias encontradas nos fluidos de corte crescem, preferencialmente, em pH de 9,2 – 9,5.

Os microrganismos são encontrados nos fluidos de corte devido aos nutrientes orgânicos e inorgânicos que os compõem, como o óleo mineral, ésteres sintéticos e aminas, exemplificando

os nutrientes orgânicos, e cloro, cálcio, sódio, manganês, magnésio, ferro, sulfato, cloreto e fosfato, os inorgânicos.

As primeiras evidências de contaminação por microrganismos nos fluidos de corte podem ser as mudanças no odor e decréscimo no pH do óleo; diminuição da vida útil da ferramenta; aumento na taxa de rejeição das peças; corrosão; incidência de dermatites e irritação cutânea dos trabalhadores que manuseiam o óleo; além de mudanças na estabilidade da emulsão.

Os fluidos de corte não apresentam sempre os mesmos constituintes e apresentam diferentes tipos de microrganismos (PASSMAN, 2002), tais como: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Desulfovibrio spp.* Essas bactérias podem transmitir algumas doenças aos trabalhadores, sendo as mais comuns as doenças respiratórias provocadas pelo contacto com a solução e irritações na pele – assim, é necessário adicionar biocidas de acordo com instruções do fornecedor para controlar o crescimento de microrganismos.

1.4. DERMATOSSES OCUPACIONAIS

As dermatoses ocupacionais compreendem as alterações da pele, mucosas e anexos, directa ou indirectamente causadas, mantidas ou agravadas pelo trabalho. São elas determinadas pela interacção de dois grupos de factores:

- predisponentes ou causas indirectas, como idade, sexo, etnia, antecedentes mórbidos e doenças concomitantes, factores ambientais como o clima (temperatura e humidade), hábitos e facilidades de higiene;
- causas directas constituídas pelos agentes biológicos, físicos, químicos ou mecânicos presentes no trabalho que actuariam directamente sobre a pele, produzindo ou agravando uma dermatose preexistente (BIRMINGHAM, 1998).

Cerca de 80% das dermatoses ocupacionais são produzidas por agentes químicos (como os óleos), substâncias orgânicas e inorgânicas, irritantes e sensibilizantes. A maioria é de tipo irritativo e um menor número é de tipo sensibilizante (Ali, 1994). As dermatites de contacto são as dermatoses ocupacionais mais frequentes. Estima-se que, juntas, as dermatites alérgicas de contacto e as dermatites de contacto por irritantes representem cerca de 90% dos casos de dermatoses ocupacionais. Apesar de, na maioria dos casos, não produzirem quadros considerados graves são, com frequência, responsáveis por desconforto, prurido, ferimentos, traumas, alterações estéticas e funcionais que interferem na vida social e no trabalho.

2. MICOSES

As infecções fúngicas superficiais, também denominadas de dermatomicoses, encontram-se confinadas às camadas mais exteriores da pele (epiderme, estrato espinhoso e estrato córneo), seus anexos queratinizados, como as unhas ou o cabelo, e à superfície epitelial das mucosas, raramente invadindo tecidos mais profundos ou órgãos viscerais (Esteves *et al.*, 1990; Martins, 1993).

O aspecto clínico das lesões traduz-se por erupções pápulo-vesiculosas com descamação superficial em pequenas áreas, destruição de cabelos ou deformação de unhas. Na pele, as lesões pápulo-vesiculosas iniciais tendem a agrupar-se e a adquirir um aspecto anelar ou circinado que constitui a impingem. Em regra, encontram-se limitadas a uma determinada área da superfície cutânea e raramente se generalizam no organismo. Em determinadas circunstâncias, embora pouco frequentes, surgem na evolução, daquelas lesões, fenómenos inflamatórios, mais ou menos intensos, particularmente nas áreas pilosas, com aparecimento de tumefacções ou de nódulos e frequente supuração. Em casos raros, a doença a partir da superfície invade os tecidos profundos e os órgãos viscerais (Esteves *et al.*, 1990; Martins, 1993).

Sob a designação de micoses superficiais, agrupam-se as dermatoses provocadas por fungos geralmente bem adaptados ao homem, e aos animais, com carácter clínico suave, superficial e restrito, cujo período de incubação é, em regra, relativamente curto. O início é rápido, os sintomas, então mais acentuados, tendem posteriormente para se atenuar e a doença para auto limitar-se. O carácter geral é benigno. Surgem mais frequentemente, conforme o tipo clínico, em crianças, jovens ou adultos, não se relacionam obrigatoriamente com qualquer ocupação ou actividade e têm distribuição geográfica mundial. Consideram-se correntemente como micoses superficiais as seguintes entidades descritivas: dermatofitias (sinónimo de tinha); candidíase (certas formas); pitiríase versicolor; tinha negra; pedras; casos mais raros por espécies oportunistas de: *Aspergillus*; *Alternaria*; *Scopulariopsis*; *Hendersonula*, entre outras (Esteves *et al.*, 1990).

De acordo com Beare *et al.* (1968), citados por Esteves *et al.* (1992), as dermatomicoses constituem uma das grandes endemias micóticas. Admite-se que existam no mundo mais de 15 milhões de casos de tinha do couro cabeludo e não parece haver tendência para a regressão da endemia. Por outro lado, aumenta por toda a parte a prevalência de localizações na pele glabra.

As dermatomicoses provocadas por fungos dermatófitos (também denominadas de dermatofitias, dermatofitoses ou *tinhas*) e as formas superficiais de candidíase têm sido consideradas as mais importantes do ponto de vista patogénico, clínico e epidemiológico, tendo

exercido uma influência considerável na saúde europeia até meados do século XX (Esteves *et al.*, 1990; Torres-Rodriguez e López-Jodra, 2000).

Actualmente, as infecções causadas por dermatófitos continuam a afectar uma grande parte da população mundial, aproximadamente 40%, e representam 30% de todas as infecções fúngicas superficiais, sendo as mais comuns as que afectam a pele e as mucosas (Kaszuba *et al.*, 1998, Evans, 1998 citados por Araújo *et al.*, 2003). As onicomicoses são as mais frequentes das doenças das unhas e representam entre 18 a 40 % de todas as onicopatias (Gupta *et al.*, 1998).

As dermatomicoses são infecções que devem ser consideradas bastante importantes a nível da saúde pública pelos prejuízos que acarretam e pelo impacto sócio-económico que provocam (Araújo *et al.*, 2003). Em determinadas profissões (agricultores, empregados de limpeza, jardineiros, metalúrgicos, trabalhadores da construção civil, entre outras) a infecção fúngica a nível cutâneo pode ser extremamente dolorosa e causar um desconforto tal que impeça o trabalho. Quando ocorrem dermatomicoses em pessoas empregadas em bares ou em restaurantes, no atendimento ao público ou na prestação de cuidados de saúde, é necessária e urgente a sua saída dos postos de trabalho, podendo a recuperação demorar meses. O tratamento, por sua vez, pode recorrer à administração de fármacos bastante dispendiosos.

A qualidade de vida dos doentes é prejudicada, a sua auto-estima pode ser reduzida e a sua capacidade funcional é, por vezes, afectada de forma a interferir nas actividades de rotina diária. As onicomicoses, em particular, podem agravar outras afecções clínicas, especialmente no indivíduo idoso; tal como as amputações de membros inferiores nos portadores de Diabetes *Mellitus* correlacionadas às onicomicoses (Gupta *et al.*, 1998). As onicomicoses crónicas podem, portanto, aumentar os custos dos cuidados com a saúde (Araújo *et al.*, 2003).

Em Portugal, tal como em vários países do continente americano, tem sido apenas através de estudos individuais que se vai tomando conhecimento da prevalência das dermatomicoses, visto estas não serem de declaração obrigatória, não levarem a internamento hospitalar e serem, normalmente, tratadas por automedicação. Pela sua elevada prevalência e prejuízos causados à população, as infecções fúngicas superficiais têm significado médico-social e importância em saúde pública no nosso país e as informações e sondagens complementares indicam que a sua frequência aumenta e constitui apreciável volume clínico na prática diária (Rosado e Teles, 1989).

Existem ainda dificuldades apreciáveis no conhecimento epidemiológico e na vigilância sanitária, tanto no âmbito mundial como no nosso país, o que torna particularmente relevantes os estudos efectuados nesta área.

2.1. CLASSIFICAÇÃO DAS MICOSES

Tradicionalmente, do ponto de vista clínico, classificam-se as micoses ou infecções fúngicas em quatro categorias principais, de acordo com a sua localização e estruturas afectadas: micoses superficiais ou cutâneas; micoses subcutâneas; micoses sistémicas; micoses oportunistas.

As **micoses superficiais** encontram-se confinadas à epiderme e seus anexos, afectando, por vezes, a derme e, mais raramente, os órgãos internos. Caracterizam-se por não apresentarem anticorpos séricos, provocarem inflamação local banal e, com frequência, serem transmitidas por contacto directo. Esta categoria compreende todas as doenças provocadas por fungos sobre as camadas mais exteriores da pele (epiderme, estrato espinhoso e estrato córneo), as membranas muco-cutâneas, os órgãos genitais, o ouvido externo, podendo também envolver o cabelo/pêlos e o couro cabeludo.

As **micoses subcutâneas** localizam-se no tecido subcutâneo, tendem para a cronicidade e raramente têm uma disseminação sistémica. Os agentes etiológicos responsáveis por este tipo de micoses são, em regra, fungos saprófitas existentes no solo que se implantam, sobretudo, ao nível dos membros inferiores após uma situação traumática. Normalmente, ocorrem lesões profundas e ulceradas ou verifica-se formação de massas fúngicas, mais comuns nos membros inferiores. Provocam, geralmente, uma resposta leucocítica ou eosinofílica por parte do organismo humano, podendo conduzir à formação de quistos ou granulomas.

As **micoses sistémicas** podem envolver os tecidos e os órgãos internos, permanecer localizadas ou tornar-se disseminadas por todo o organismo. Neste caso, cada espécie de fungo apresenta especificidade para infectar um determinado órgão. Caracterizam-se por apresentar anticorpos séricos, provocar reacção inflamatória granulomatosa, sendo desconhecido o seu contágio indivíduo a indivíduo.

As **micoses oportunistas** são infecções causadas por fungos com baixa virulência existentes no meio ambiente. O que acontece nesta situação é que determinado indivíduo que já se encontre com o seu sistema imunitário debilitado devido a outra(s) doença(s) pode sofrer uma infecção secundária que se pode tornar bastante grave, ainda que causada por um fungo, normalmente, não patogénico.

No grupo de fungos que causam micoses superficiais ou cutâneas, pode fazer-se uma subdivisão entre os fungos que vivem de compostos existentes na superfície da nossa pele, não invadindo o tecido vivo e os fungos que têm capacidade de invadir o tecido vivo.

2.2. DERMATOMICOSSES DA PELE

A infecção da pele caracterizada por lesões circulares vermelhas, causadoras de comichão é designada por “ringworm”. As manifestações clínicas decorrentes das dermatomicoses resultam quer da colonização e da multiplicação dos fungos dermatófitos na camada córnea da pele, quer da conseqüente reacção do hospedeiro. Os fungos permanecem restritos ao estrato córneo e como resultado da actividade queratinofílica são produzidos metabolitos que provocam inflamação. Simultaneamente, a camada espinhosa torna-se escamosa (Hoog e Guarro, 1995).

Tradicionalmente, a classificação das lesões de “ringworm” depende da localização anatómica das mesmas no corpo humano. A denominação de cada tipo de dermatomicose que afecta a pele é efectuada adicionando-se um nome latino que designa o local do corpo humano afectado à palavra “tinha” (Hoog e Guarro, 1995; Pinheiro, 2007).

• Tinea manum

Pequenas lesões entre os dedos das mãos, podendo estender-se por toda a mão. O agente etiológico causador é, na maior parte das vezes, *Trichophyton rubrum* (Hoog e Guarro, 1995).

2.3. DERMATOMICOSSES DAS UNHAS

• *Tinea unguium* ou Onicomicose

Infecção eminentemente crónica da unha e de todo o tecido envolvente. Ocorre na maior parte das vezes nas unhas dos pés. Expande-se da periferia para o centro, num processo pelo qual a unha pode cair. Pode ocorrer descolamento da unha, hiperqueratose subungueal e destruição parcial ou total da unha. O termo *tinea unguium* refere-se a onicomicose provocada por fungos dermatófitos, enquanto que o termo onicomicose designa qualquer micose nas unhas.

Os dermatófitos reconhecidos como causadores de *tinea unguium* são, principalmente, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*. Alguns fungos não dermatófitos, *Candida spp.* e *Scopulariopsis brevicaulis*, são reconhecidos como causadores de onicomicoses, quer nas unhas das mãos como nas dos pés, com frequente inflamação no tecido em redor (*paronyquium*) (Hoog e Guarro, 1995; Ramos-e-Silva, 1995; Pinheiro, 2007).

2.4. FACTORES PREDISPONENTES DE DERMATOMICOSSES

2.4.1. FACTORES EXTRÍNSECOS

A integridade da camada córnea da pele e das unhas é fundamental na prevenção da infecção fúngica. Qualquer processo que leve à quebra desta barreira facilita a penetração da mesma por diferentes espécies fúngicas. Estes factores tanto podem incluir agressões físicas como químicas. Em muitos dos casos, a exposição ao microrganismo é também condicionada pela profissão e hábitos do indivíduo. A propagação da infecção pode ocorrer devido à existência de macroconídios, microconídios, artrósporos, escamas de pele ou cabelos infectados que são disseminados para outros locais ou retidos em objectos partilhados por diferentes pessoas, conduzindo à infecção (Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000).

Descrevem-se, correntemente, como **factores extrínsecos** (ou locais) que predis põem ao aparecimento de dermatomicoses:

- Profissões de risco (agricultores; jardineiros; trabalhadores da construção civil; metalúrgicos; pessoas que trabalham em bares ou em restaurantes e que estão constantemente sujeitos a microtraumas; empregados de limpeza que não usam luvas adequadas tendem a possuir as suas mãos expostas à água por longos períodos de tempo, causando maceração da pele e das unhas que pode ainda ser agravada pelo uso de detergentes e outras substâncias que actuam quimicamente potenciando o efeito físico já obtido; pessoal de saúde; veterinários; trabalhadores de infantários; etc.);
- O uso de sapatos com sola de borracha que provoca abrasão e/ou oclusão do pé (considerando este factor, existem profissões de risco, como o caso dos pescadores ou dos mineiros, por ex.) ou o uso de calçado impróprio (sapatos de senhora demasiado bicudos, excessivamente fechados ou com o salto demasiado alto);
- O uso de meias de fibra sintéticas, as quais não permitem que o pé transpire;
- A exposição a grandes quantidades de inóculo (em piscinas e ginásios, por ex.);
- A partilha de roupas e toalhas (quer directamente ou por contaminação por lavagem em comum) e;
- O extremo cuidado com as unhas é também prejudicial, já que o corte das cutículas que envolvem as unhas as torna mais vulneráveis (Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000).

2.4.2. FACTORES INTRÍNSECOS

Descrevem-se, também, como *factores de realização da doença* determinados **factores intrínsecos** (ou gerais) de grande importância ao considerar o nível de resistência que o indivíduo possui em relação a determinada infecção fúngica superficial:

- Factores genéticos;
- Idade;
- Sexo;
- Estado endócrino (ex. *Diabetes Mellitus*) e nutricional do indivíduo;
- Terapias com corticosteróides, antibióticos e imunossupressores e;
- Ocorrência de outras doenças (grande expansão do vírus da SIDA, por ex.) (Levy, 1997 citado por Araújo *et al.*, 2003; Torres-Rodríguez e López-Jodra, 2000).

3. FUNGOS DERMATÓFITOS

Os fungos dermatófitos, considerados agentes etiológicos de dermatomicoses, são fungos filamentosos que invadem os tecidos superficiais queratinizados do Homem e de outros animais vertebrados, como a pele, as unhas e o cabelo ou os pêlos.

Os fungos dermatófitos caracterizam-se por apresentar duas fases evolutivas, a assexuada, na qual pode ser parasita, e a sexuada, quando é saprófita do meio ambiente. Na fase parasitária, os dermatófitos compreendem três géneros diferentes: *Microsporum spp.*, *Trichophyton spp.* e *Epidermophyton spp.* (Martins, 1993; Karaca e Koç, 2004).

Existem espécies antropófilas que são parasitas obrigatórios do Homem, espécies zoofílicas que têm nos animais o seu principal reservatório e só ocasionalmente infectam o Homem e espécies geofílicas que vivem como saprófitas no solo, podendo infectar o Homem e outros animais, ainda que indirectamente (Martins, 1993). *Trichophyton rubrum* tem sido referido como o principal agente etiológico responsável por dermatofitias, no entanto outras espécies de dermatófitos têm sido também isoladas com frequência, como *Trichophyton mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum*, o que sugere que as dermatofitias causadas por espécies antropófilas têm vindo a aumentar nos últimos anos (Rosado e Teles, 1989; Onychomycosis, 2007).

3.1. MORFOLOGIA MACROSCÓPICA

As colónias dos dermatófitos são algodoadas, penugentas ou aveludadas consoante a maior ou menor abundância de micélio aéreo. São pulverulentas quando os esporos são abundantes e glabras quando não possuem micélio aéreo (Martins, 1993).

A superfície pode ser cerebriforme se apresentar sulcos e dobras, radiada se os sulcos divergirem a partir do centro ou lisa quando não apresenta sulcos. Podem ser mais ou menos elevadas (acuminadas), ou completamente planas nos casos em que o micélio se estende sobre a superfície do meio sem crescer em altura (Martins, 1993).

Quanto à cor, observa-se que algumas espécies desenvolvem coloração roxa, castanha, vermelha, amarelada ou alaranjada, no verso e/ou no reverso da colónia (por vezes mais evidente neste último). A cor é frequentemente característica da espécie embora, em estirpes diferentes, se observem variações na cor e no aspecto das colónias dentro da mesma espécie. Passagens sucessivas nos meios de culturais habituais levam ao aparecimento de pleiomorfismo. As formas pleiomórficas crescem mais rapidamente, assimilam melhor os açúcares e o azoto mineral e alteram os seus constituintes antigénicos (Martins, 1993).

3.2. PATOGENIA DOS FUNGOS DERMATÓFITOS E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DO HOSPEDEIRO

Os fungos dermatófitos possuem duas propriedades muito importantes: são queratinófilos e queratinolíticos, i.e., têm a capacidade de, no seu estado saprofítico, digerir a queratina *in vitro* e de a utilizar como substrato, podendo invadir tecidos vivos e provocar determinadas lesões (Simpanya, 2002).

Fugita e Matsuyama (1987) e Aljabre *et al.* (1992), citados por Martins (1993), sugeriram que a emergência das hifas invasoras durante a infecção fúngica favorece a sobrevivência do fungo *in vivo* apesar da resposta imunitária protectora do hospedeiro, actuando assim como um factor de virulência adicional em muitas infecções micóticas.

Os dermatófitos, em geral, invadem e parasitam as partes não vivas: camadas queratinizadas da pele, unhas e cabelo. Esta relação parasita-hospedeiro altamente especializada é responsável por uma grande variedade de manifestações clínicas. No que respeita ao aspecto das infecções dermatofíticas da pele, assim como os cabelos partidos e as unhas distróficas, há uma grande variedade de graus de reacções inflamatórias e eczematosas que os agentes micóticos provocam no hospedeiro (Grappel *et al.*, 1974 e Barlow, 1976 citados por Martins, 1993). Muitas destas interacções parasita-hospedeiro estão dependentes de substâncias e

enzimas produzidos por muitos dermatófitos. Cada género deste grupo de fungos é caracterizado por possuir “tecidos preferenciais” que infecta, no entanto, desconhecem-se as razões da especificidade tecidual que se tem observado mas é provável que esteja relacionada com as necessidades nutricionais específicas ou com a produção de enzimas pelos próprios organismos.

A severidade do processo infeccioso (infecção suave → infecção grave) pode dever-se, em parte, à reacção do hospedeiro ao organismo invasor que, por sua vez, depende de vários factores: virulência da espécie ou da estirpe infectante; reacção do hospedeiro aos produtos metabólicos produzidos pelo fungo; local anatómico da infecção; factores locais ambientais.

Se, por um lado, se admite que existam espécies ou estirpes fúngicas com maior virulência que outras, por outro lado, o estado imunológico do hospedeiro é também de grande importância na determinação da resposta à infecção fúngica. Para que as respostas imunitárias do hospedeiro sejam despoletadas é necessário que o fungo tenha conseguido atravessar as barreiras não específicas do nosso organismo que tentam impedir a sua entrada (Laboratoires Pfizer, 1989).

No caso particular das dermatofitias, estas barreiras primárias à infecção fúngica incluem, entre outras: a acção esterilizante da pele atribuída à presença de ácidos gordos não saturados de cadeia longa que se encontram na própria pele (Rothman *et al.*, 1945 e Burak *et al.*, 1958 citados por Martins, 1993; Laboratoires Pfizer, 1989); a modificação sebácea do couro cabeludo na altura da puberdade ou a acção da gordura do cabelo de adultos atribuída à presença de ácidos gordos alifáticos saturados entre C7 e C11 (Nicolaidis *et al.*, 1952 e Van Hecke e Meysman, 1980 citados por Martins, 1993); a acção das membranas mucosas atribuída à presença de fluídos e de secreções sebáceas contendo substâncias antifúngicas (Laboratoires Pfizer, 1989); a competição com a flora bacteriana normal (Laboratoires Pfizer, 1989); e a taxa de “turn-over” epitelial (Laboratoires Pfizer, 1989).

3.3. EPIDEMIOLOGIA

Quando se pretende considerar a distribuição e a importância dos fungos dermatófitos em qualquer região, dever-se-á ter em consideração vários factores. Estes incluem a presença de um reservatório animal para as espécies zoofílicas, a existência de condições que permitam a expansão de epidemias de espécies antropofílicas e a migração de pessoas que transportem infecções de dermatófitos característicos de outras regiões, permitindo o aparecimento de novos focos onde o fungo possa sobreviver e possivelmente expandir-se à população autóctone. Este último factor tem possibilitado o isolamento de uma maior variedade de espécies de fungos dermatófitos em locais onde, em princípio, seria pouco provável encontrá-los (Evans e Richardson, 1989 citados por Martins, 1993).

Cada espécie tem, em relação aos hospedeiros, diferentes graus de especificidade. Epidemiologicamente podem ser classificadas em três grupos: antropofílicas, zoofílicas e geofílicas (Ajello, 1960 e Tanaka *et al.*, 1992 citados por Martins, 1993).

As **espécies antropofílicas** são parasitas obrigatórios do Homem. Esse é o seu reservatório habitual e propagam-se por contágio directo, de pessoa para pessoa, ou indirecto, através de objectos contaminados. Frequentemente produzem surtos epidérmicos em escolas, orfanatos, piscinas e em outros locais públicos onde os utentes tenham grande probabilidade de entrar em contacto com os agentes micóticos (Emmons *et al.*, 1977 citados por Martins, 1993). Em geral, as infecções têm evolução crónica e reacção inflamatória reduzida o que sugere que as espécies pertencentes a este grupo estão bem adaptadas à existência nos tecidos humanos (Beneke e Rogers, 1980 citados por Martins, 1993). As lesões que estes fungos provocam localizam-se geralmente em zonas do corpo habitualmente cobertas por roupa ou sapatos (Ripon, 1985 citado por Martins, 1993).

Os chamados fungos antropofílicos incluem *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton megninii*, *Trichophyton concentricum*, *Microsporum audouinii*, *Microsporum ferrugineum* e *Epidermophyton floccosum* (Martins, 1993).

As **espécies zoofílicas** só ocasionalmente afectam o Homem; os animais são o seu principal reservatório. Estas espécies parasitam ou apenas existem saprofiticamente nos animais e, são os próprios animais, que contagiam directa ou indirectamente o ser humano (Allelo, 1974 citado por Martins, 1993). As infecções provocam o aparecimento de lesões de evolução crónica, com frequência epizoótica, a partir das quais o agente etiológico se pode propagar ao Homem originando lesões muito inflamatórias.

As espécies de dermatófitos que frequentemente causam dermatofitias em animais são: *Microsporum canis*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *granulare*, *Microsporum distortum*, *Trichophyton equinum*, *Trichophyton gallinae* e *Trichophyton erinaceae* (Cabrita *et al.*, 1973 citados por Martins, 1993).

As **espécies geofílicas** vivem como saprófitas no solo parasitando restos queratinizados. A partir destes, podem infectar o Homem e os outros animais, dando origem a quadros clínicos com um componente inflamatório elevado, o que sugere uma má adaptação destes fungos ao parasitismo nos tecidos animais (Nannizzi, 1927 e Dawson e Gentles, 1959 citados por Martins, 1993).

Microsporum gypseum é a espécie geofílica que se isola, com maior frequência, de lesões no Homem (Martins, 1993).

4. OUTROS FUNGOS FILAMENTOSOS POTENCIALMENTE QUERATINOFÍLICOS

O termo “fungo queratinofílico” é utilizado para designar todos os fungos que colonizam substratos ricos em queratina, degradando-a em componentes de baixo peso molecular (Gugnani, 2002). Os fungos denominados de queratinofílicos são todos aqueles que demonstram possuir actividade queratinofílica *in vitro*. Diferem dos fungos denominados de queratinolíticos na medida em que a degradação da queratina efectuada por estes últimos foi experimentalmente provada, verificando-se, também, que invadem tecidos *in vivo*, provocando dermatomicoses.

Actualmente, verifica-se um aumento da prevalência de lesões superficiais provocadas por fungos filamentosos não dermatófitos potencialmente queratinofílicos, anteriormente considerados apenas como ambientais ou contaminantes (Alteras, 1979; Araújo, 2003; Onychomycosis, 2007).

No grupo dos fungos filamentosos não dermatófitos têm sido referidos os seguintes géneros/espécies: *Acremonium spp.*; *Aspergillus spp.*; *Fusarium oxysporum*; *Onychocola canadensis*; *Scopulariopsis brevicaulis*; *Scopulariopsis spp.*; *Scytalidium dimidiatum*; *Scytalidium hyalinum*; entre outros (Gentle *et al.*, 1970, Zaias, 1972, Campbell *et al.*, 1977, Onsberg, 1980 e Badillet *et al.*, 1982 citados por Esteves *et al.*, 1990; Rosado, 1989; Onychomycosis, 2007).

Entre os fungos não dermatófitos com capacidade para invadir as unhas e produzir onicomicoses consideram-se, sobretudo, *Scopulariopsis brevicaulis*, que atinge principalmente as unhas dos pés (Zaias, 1972 citado por Esteves *et al.*, 1990) e *Hendersonula toruloidea*, ou a sua forma artrosporada (anamorfa) *Scytalidium hyalinum*, que produzem também lesões nas palmas das mãos, plantas e espaços interdigitais dos pés e cuja patogenicidade parece comprovada.

Roberts (1985), citado por Esteves *et al.* (1990), considera *Scopulariopsis brevicaulis* agente patogénico secundário em unhas infectadas por dermatófitos, ou lesadas por outra causa, embora Onsberg (1980), citado por Esteves *et al.* (1990), atribua unicamente aquela espécie a etiologia de 6% das onicomicoses.

A maior parte dos casos devidos a *Hendersonula toruloidea* ou a *Scytalidium hyalinum* foram diagnosticados em Inglaterra ou em França e em indivíduos que viveram em áreas tropicais (Gentle *et al.*, 1970, Campbell *et al.*, 1977 e Badillet *et al.*, 1982 citados por Esteves *et al.* 1990). O aspecto clínico, em regra, não se distingue do das dermatofitias e é frequente que seja atingida mais de uma unha. Os filamentos são, geralmente, hialinos, mais raramente pigmentados, de diâmetro variável e com aspecto sinuoso, lembrando a pseudofilamentação de *Candida* na pele (Moore, 1986 citado por Esteves *et al.* 1990). Em cerca de 1/3 dos casos a

infecção é associada a dermatofitose. As discromias ungueais são, com frequência, devidas à presença de bactérias (Zaias, 1972 citado por Esteves *et al.*, 1990), no entanto, conhecem-se alterações originadas por fungos, como a cor castanha resultante de infecção por *Scopulariopsis brevicaulis* ou as manchas negras produzidas por *Hendersonula toruloidea*.

Deve dar-se uma maior atenção às espécies isoladas a partir de lesões da pele e/ou dos seus anexos queratinizados que não pertencem ao grupo dos fungos dermatófitos e que, muitas das vezes, são consideradas como simples contaminantes (Fusconi e Filipello Marchisio, 1991).

5. FUNGOS LEVEDURIFORMES

5.1. MORFOLOGIA, REPRODUÇÃO, POSIÇÃO TAXONÓMICA E ECOLOGIA

As leveduras constituem um grupo heterogêneo de fungos, cuja forma de desenvolvimento dominante é unicelular. O soma leveduriforme é caracterizado, geralmente, por células globosas, ovóides, elípticas, cilíndricas ou apiculadas (Lacaz, 1960).

A maioria das leveduras reproduz-se assexuadamente, por gemulação ou fissão binária. Algumas têm a capacidade de produzir estruturas que se assemelham a sacos (ascos ou *asci*), dentro dos quais se formam esporos (ascósporos) que intervêm na reprodução sexuada; outras, ainda, produzem esporos sexuais (basidiósporos) numa estrutura especial, o basídio (*basidium*) (Esteves *et al.*, 1990).

Em taxonomia, durante muito tempo, a classificação aceite, baseada essencialmente na morfologia e na reprodução sexuada, considerava os filos: *Zigomycota* (fungos que formam zigósporos), *Ascomycota* (fungos que formam ascos com ascósporos), *Basidiomycota* (fungos que formam basídios com basidiósporos) e *Deuteromycota* (grupo a que pertenciam os fungos dos quais só se conhecia a reprodução assexuada).

Actualmente, para além de aspectos morfológicos e reprodutores, consideram-se também na classificação novos dados relacionados com a ultra-estrutura das paredes celulares e com sequências de genes ARN ribossomal. A nova classificação mantém as divisões *Zigomycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*, desaparecendo a divisão *Deuteromycota* (sendo esta distribuída pelas anteriores). Surge, também, uma nova divisão: a *Chitridiomycota*, onde se encontram organismos com esporos móveis e que são sobretudo parasitas de algas e sem importância clínica.

As leveduras eram anteriormente integradas, por vários autores, na classe dos *Deuteromycetes* que pertencia à divisão dos Fungos Imperfeitos ou *Deuteromycota*. Nesta classe estavam incluídas as principais leveduras com importância em patologia clínica. Os

Deuteromycetes incluíam os fungos em que não se observava reprodução sexuada. Designavam-se por fungos imperfeitos ou anamorfos porque não se conheciam as suas formas sexuadas (perfeitas ou teleomorfas). À medida que se foram descobrindo as suas formas perfeitas ou teleomorfas, as várias espécies e géneros foram sendo transferidas para a classe dos *Ascomycetes* ou para os *Basidiomycetes* (Grigoriu *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1990). Actualmente, o principal grupo de leveduras está incluído na classe *Hemiascomycetes* que pertence à divisão *Ascomycota*. Nesta divisão, incluem-se os géneros *Candida* e *Geotrichum*. Na divisão *Basidiomycota*, salienta-se a espécie *Cryptococcus neoformans* e os géneros *Malassezia*, *Trichosporon* e *Rhodotorula*.

As leveduras são saprófitas do meio ambiente podendo algumas, em determinadas condições, tornar-se patogénicas para o homem (Grigoriu *et al.*, 1987). Com interesse em Micologia Médica encontram-se, principalmente, as leveduras pertencentes aos géneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Torulopsis* e *Trichosporon*. É particularmente relevante a importância do género *Candida* em patologia humana (Badillet *et al.*, 1987).

5.2. GÉNERO CANDIDA

O número de espécies incluídas neste género tem variado com os diferentes critérios de classificação (Esteves *et al.*, 1992). Segundo Torres-Rodríguez e Carceller (1993), existem mais de 150 espécies identificadas, de que apenas uma parte é responsável por patologia humana. Entre estas espécies, apenas 3 ou 4, em particular *Candida albicans*, ocasionam mais de 90% das micoses. As espécies *non-albicans* com maior importância em Micologia Médica são *Candida tropicalis* (*Candida paratropicalis*), *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida pseudotropicalis* (*Candida kefyr*), *Candida lusitanea* e *Candida lipolytica*.

5.2.1. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ECOLOGIA

A espécie mais importante, *Candida albicans*, tem distribuição geográfica mundial (Enweani *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1990; Torres-Rodríguez e Carceller, 1993). Algumas espécies *non-albicans* são, também, encontradas por todo o mundo, outras apresentam maior prevalência nos países tropicais e europeus (Grigoriu e Delacrétaz, 1979).

O habitat natural de *Candida albicans* é constituído pelas mucosas do Homem, de outros mamíferos e de aves, onde vive como comensal. No Homem, o tracto digestivo e o canal

vaginal constituem os principais “reservatórios”. Encontra-se raramente na pele sã (Ryley, 1986; Grigoriu *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1990; Torres-Rodríguez e Carceller, 1993).

Candida albicans tem sido, também, isolada a partir do solo, de fontes vegetais, de materiais e objectos que conservam a humidade e de ambientes hospitalares (Esteves *et al.*, 1990; Torres-Rodríguez e Carceller, 1993). Em doentes internados, isola-se com maior frequência relativamente à população normal, facto provavelmente importante na perspectiva das infecções nosocomiais (Ryley, 1986; Mendling, 1988). Os isolamentos a partir da atmosfera têm sido raros (Esteves *et al.*, 1990).

O habitat das restantes espécies é mal conhecido. São, por vezes, isoladas a partir da pele e das mucosas de indivíduos sem lesões, de animais e de material inerte (Esteves *et al.*, 1990).

5.2.2. POSIÇÃO TAXONÓMICA

O género *Candida* Berkhout, 1923, igualmente conhecido por *Oidium* Robin, 1853, ou *Monilia* Zopf, 1890, entre outras sinonímias, outrora integrado na classe dos *Deuteromycetes* passou a ser considerado, por alguns autores, como pertencente à classe dos *Ascomycetes*, à medida que se foram descobrindo as formas perfeitas (teleomorfias) de algumas das espécies (Badillet *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1990). Actualmente, género *Candida* é incluído na divisão *Ascomycota*.

5.2.3. MORFOLOGIA

As leveduras do género *Candida* são fungos dimorfos que têm a capacidade de existir no vivo e em cultura (em vários meios e temperaturas) quer sob forma leveduriforme quer sob forma filamentosa (Esteves *et al.*, 1990; Ghannoum *et al.* em: Meunier, 1995).

Morfologicamente, caracterizam-se pela presença de células redondas, ovais, cilíndricas ou alongadas, por vezes de forma irregular (fase leveduriforme); pela formação de pseudomicélio em todas ou na maioria das espécies e variedades; e, por vezes, pelo desenvolvimento de verdadeiro micélio em algumas estirpes (fase filamentosa) (Esteves *et al.*, 1990; Ghannoum *et al.* em: Meunier, 1995).

A distinção entre pseudo e verdadeiro micélio, baseia-se na formação dos septos, espessura da parede celular e dimensões relativas das células terminais e sub-terminais. Alguns autores não reconhecem o termo pseudo-hifa, utilizado para descrever as células leveduriformes

dispostas em cadeias que não se encontram permanentemente conectadas, em contraste com as verdadeiras hifas, cujos segmentos formam uma verdadeira unidade fisiológica.

Um número reduzido de espécies tem capacidade de produzir tubos germinativos. Em todas as espécies e variedades verifica-se ausência de formação de artrósporos e balistósporos (Esteves *et al.*, 1990).

5.2.4. REPRODUÇÃO

As leveduras do género *Candida* reproduzem-se assexuadamente por gemulação multipolar. Algumas espécies são ascosporadas, i.e., têm a capacidade de produzir ascos (*asci*), dentro dos quais se formam ascósporos que intervêm na reprodução sexuada. Conhecem-se, inclusivamente, as formas perfeitas (teleomorfas) de algumas espécies:

Formas sexuadas em *Candida spp.*

Forma imperfeita ou anamorfa	Forma perfeita ou teleomorfa
• <i>Candida pseudotropicalis</i> (Castellani) Basgal, 1931	• <i>Kluyveromyces fragilis</i> (Jørgensen, 1909)
• <i>Candida robusta</i> Didens e Lodder, 1942	• <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
• <i>Candida krusei</i> (Castellani) Berkhout, 1923	• <i>Pichia kudriavzenni</i> (Boidin, Pignal e Besson, 1965)
• <i>Candida guilliermondii</i> (Castelani) Langeron e Guerra, 1935	• <i>Pichia guilliermondii</i> (Wickerham, 1966)
• <i>Candida pulcherima</i> (Lindner) Windisch, 1901	• <i>Metschni kowia pulcherima</i> (Pitt e Miller)
• <i>Candida parapsilosis</i> (Ashford) Langeron e Talice, 1918	• <i>Lodderomyces elongisporus</i> (Recca e Mrak) Van der Walt
• <i>Candida norvegensis</i> (Dietrichson) Vanvden e Buckley, 1970	• <i>Pichia norvegensis</i> (Leask e Yarrow, 1976)

(Adaptado, em parte, de Drouhet, 1983)

5.2.5. FISIOLÓGIA

As condições indispensáveis para a maioria das leveduras se desenvolver são: presença de fonte azotada e de fonte de carbono, pH ligeiramente ácido e temperatura entre os 30° e os 37° C (Segretain *et al.*, 1987).

As leveduras do género *Candida*, em particular, caracterizam-se por capacidade fermentativa (fermentação alcoólica em muitas espécies) e por assimilação de determinados compostos de carbono e nitrogénio. A maioria das espécies é oxidase positiva quando cultivada em meios de cultura sem glucose. Algumas espécies produzem polissacáridos extracelulares com reacção positiva para o iodo, outras têm capacidade para reduzir o trifeniltetrazólio, são sensíveis à ciclo-heximida e a determinados agentes antifúngicos. Em todas as espécies e variedades verifica-se ausência de produção de pigmentos carotenóides, de actividade ureásica e de utilização do KNO₃ (Badillet *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1990).

5.2.6. CANDIDÍASE

As alterações orgânicas, locais ou gerais, por leveduras do género *Candida* – candidíases ou candidoses –, quando estes agentes adquirem capacidade patogénica, são encontradas por todo o mundo. A sua incidência depende das espécies envolvidas e varia de região para região (Grigoriu *et al.*, 1987).

Em condições especiais do organismo do hospedeiro, verifica-se o aparecimento de lesões cuja gravidade é extremamente variável, desde o vulgar “sapinho” (candidíase bucal) até à sépsis mortal. As infecções podem revelar-se de modo agudo, subagudo ou crónico, registando-se tendência para recidiva, se não forem corrigidas as causas que motivam o aparecimento da doença (Esteves *et al.*, 1992).

Admite-se que, na maioria dos casos, a candidíase por *Candida albicans* seja de origem endógena. Quando estão em causa outras espécies patogénicas de *Candida*, a infecção é frequentemente exógena (Esteves *et al.*, 1992).

As infecções adquirem fisionomia expressiva na superfície do corpo, não sendo características no interior do organismo. A sintomatologia depende da localização da doença (Esteves *et al.*, 1992).

5.2.6.1 QUADROS CLÍNICOS

A candidíase inclui uma diversidade polimorfa de quadros clínicos, em regra localizados, que afectam a pele, as mucosas, as unhas, o tecido subcutâneo ou os órgãos internos.

As lesões cutâneo-mucosas são sobretudo intertriginosas e as viscerais têm carácter ocasional. Observam-se, também, formas disseminadas, superficiais ou sistémicas. As formas diagnosticadas com maior frequência são a candidíase bucal e a vaginal (Enweani *et al.*, 1987; Segretain *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1990; Torres-Rodríguez e Carceller, 1993).

Actualmente, verifica-se um aumento da prevalência de lesões superficiais provocadas por fungos leveduriformes. Neste grupo de fungos tem sido referido, sobretudo, o género *Candida spp.* (Alteras, 1979; Araújo, 2003; Onychomycosis, 2007).

5.2.6.2 PATOGENIA E SUSCEPTIBILIDADE PARA A INFECÇÃO

As leveduras do género *Candida*, em particular *Candida albicans*, inicialmente saprófitas, podem, na presença de alterações nas condições fisiológicas ou patológicas do indivíduo, adquirir capacidade patogénica (Grigoriu e Delacrétaz, 1979).

Vários autores defendem que a passagem do estado de comensalismo a patogénico é acompanhada por modificações do fungo que funcionam como factores de virulência, conferindo-lhe a capacidade de aderência às células do hospedeiro (Sandi e Rogers, 1982; Esteves *et al.*, 1990; Pike *et al.*, 1991; Ghannoum e Edwards Jr, 1992; Torres-Rodríguez e Carceller, 1993; Senet e Robert, 1995).

Segundo Torres-Rodríguez e Carceller (1993) e Senet e Robert (1995), essas modificações compreendem: desenvolvimento de formas filamentosas com produção de hifas ou pseudo-hifas, reestruturação da parede celular, alterações na superfície hidrofóbica e nas propriedades de aderência a células e a outros materiais, aumento da secreção proteica, produção de enzimas extracelulares (proteínases e fosfolipases), variabilidade genética e antigénica, entre outras.

Alguns autores referem que a susceptibilidade para a infecção seja devida a situação constitucional ou adquirida do indivíduo (Ryley, 1986; Esteves *et al.*, 1990).

Senet e Robert (1995), defendem que a severidade do processo infeccioso depende do grau imunológico de “enfraquecimento” do hospedeiro, que conduz à proliferação do fungo, o que significa que na patogenia da candidíase humana, a diferença de virulência entre as estirpes

afigura-se, possivelmente, menos relevante do que a susceptibilidade do indivíduo para a afecção.

5.2.6.3 DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

O diagnóstico micológico de todas as formas de candidíase, ao contrário do que acontece na maioria das micoses, não deve fundamentar-se unicamente no isolamento e na identificação dos respectivos agentes etiológicos, uma vez que:

- *Candida albicans* é muito frequente nas mucosas humanas em estado de comensalismo;
- Outras espécies de leveduras são também isoladas, embora com menor frequência, da pele e das mucosas de indivíduos aparentemente saudáveis.

Nestas condições é, por vezes, difícil valorizar o papel comensal ou patogénico das leveduras isoladas (Segretain *et al.*, 1987; Odds *et al.*, 1988; Esteves *et al.*, 1990), o que exige a consideração de vários factores:

- Observação directa do agente nas lesões: quantidade e morfologia;
- Manifestações patológicas produzidas;
- Quantidade e morfologia do agente no exame directo;
- Número de colónias desenvolvidas em cultura;
- Identificação da(s) espécie(s);
- Relação entre a(s) espécie(s) isolada(s) e a localização das lesões (adaptado de Esteves *et al.*, 1990).

II – OBJECTIVOS DO ESTUDO

A prevalência de infecções fúngicas superficiais provocadas por fungos não dermatófitos tem vindo a aumentar, e devido à similaridade clínica das lesões com as dermatomicoses causadas por fungos dermatófitos, o estudo micológico revela-se essencial para a sua diferenciação, sendo também importante do ponto de vista epidemiológico e terapêutico.

Um sinal/sintoma nos colaboradores das metalomecânicas é o enfraquecimento das unhas e a ocorrência de irritação na pele.

Uma hipótese é que os fungos presentes nos óleos de corte sejam responsáveis por este e outros sintomas.

Os **objectivos** do estudo foram os seguintes:

- Identificar fungos presentes nos óleos de corte;
- Identificar fungos presentes nas unhas e cutículas dos colaboradores que manuseiam os óleos;
- Relacionar as populações encontradas.

1. MATERIAL E MÉTODOS

1.1. POPULAÇÕES ESTUDADAS

O presente trabalho foi iniciado em 14/07/2006 onde se pesquisou presença de microrganismos nos óleos de corte de metalomecânicas, cuja presença de fungos deu origem ao estudo.

No período compreendido entre 02 de Agosto de 2007 e 09 de Novembro de 2007 efectuaram-se colheitas de pele e/ou de unhas de duas populações diferentes de metalomecânicas (A e B) e dos diferentes óleos contidos nas máquinas das metalomecânicas e utilizados pelos colaboradores. A escolha de uma época do ano relativamente quente foi casual. Foi tido em conta para o estudo as férias dos colaboradores; alguns deles queixavam-se de dermatoses nas unhas que diminuía e até desapareciam nesse período.

Nas populações estudadas efectuaram-se colheitas únicas de cada colaborador, o que permitiu um estudo homogéneo das duas populações (Metalomecânica A e B). Nos colaboradores que apresentavam dermatoses foram recolhidas novas amostras após 2 semanas da 1ª colheita. As colheitas foram efectuadas de forma aleatória, dirigidas aos colaboradores das metalomecânicas de diferentes profissões e categorias profissionais, independentemente de se observar alterações nas mãos e unhas dos colaboradores. Foram excluídas as amostras de colaboradores em que não se observaram alterações nas mãos e unhas mas apresentaram contaminação da cultura - ausência de estruturas fúngicas na proximidade do material biológico mas presença na placa, longe do material biológico. Inseridas nas populações e colheitas efectuadas estão duas amostras de dois colaboradores (um colaborador de Metalomecânica A e um colaborador da Metalomecânica B) que não manuseiam diariamente óleos nem peças com óleo sendo utilizadas como “controlo”. A amostra recolhida do fornecedor de máquinas da Metalomecânica A que só utiliza um tipo de óleo específico (9A) serviu para comparação com os colaboradores da Metalomecânica A que manuseiam esse óleo e trabalham nas máquinas fornecidas por este.

A população da Metalomecânica A – Produção de moldes em aço e injeção de termoplástico – foi constituída por 178 colaboradores, de idades compreendidas entre os 18 e os 65 anos, e cuja média de idades se situou nos $30 \pm 10,48$ anos (média \pm desvio padrão). **A população da Metalomecânica B** – tornearia – foi constituída por 26 colaboradores, de idades compreendidas entre os 20 e os 57 anos, e cuja média de idades se situou nos $30,5 \pm 13,69$ anos (média \pm desvio padrão). Efectuaram-se colheitas de unha(s) dos membros superiores, em cada colaborador das metalomecânicas, totalizando 204 amostras de colaboradores. Foi também efectuada colheita num fornecedor de máquinas da Metalomecânica A que só utiliza um tipo de óleo específico (9A), que será descrito abaixo.

Todos os colaboradores que, de alguma forma participaram no presente estudo, foram informados sobre os objectivos e a natureza do estudo, sendo-lhes dado o direito de decidir livremente sobre a sua participação e colaboração na investigação, por meio de um consentimento informado (Anexo I). No mesmo documento foi solicitado aos colaboradores que autorizassem a colheita de amostras de unha(s) e/ou de cutícula(s), bem como registo fotográfico e a publicação dos resultados obtidos no presente estudo, sendo sempre mantida a confidencialidade dos dados pessoais.

A colheita dos produtos biológicos nesta população foi acompanhada do registo de dados do tipo de óleos que usualmente manuseiam, período de férias, bem como o uso de luvas de protecção e uso de cremes repelente de óleo e/ou creme condicionador. Foram incluídos no estudo todos os colaboradores que efectuaram análises micológicas de unha(s) e/ou cutículas dos membros superiores.

Da **Metalomecânica A** – Produção de moldes em aço e injeção de termoplástico – foram recolhidos 11 óleos das máquinas e utilizados pelos colaboradores dessa metalomecânica. Da **Metalomecânica B** – tornearia – foram recolhidos 6 óleos das máquinas e utilizados pelos colaboradores dessa metalomecânica.

A colheita dos óleos foi acompanhada do registo de tipo de óleo bem como em que máquinas diferentes é utilizado.

1.2. MATERIAL DE ESTUDO

O material de estudo foi constituído por amostras de unhas e cutículas (produtos biológicos com queratina) dos membros superiores de colaboradores de empresas da indústria metalomecânica (A e B) e óleos usados pelos colaboradores.

Os factores considerados foram:

- O manuseamento dos óleos de corte por parte dos colaboradores é feito, em contínuo ao longo das 8 horas de trabalho e é feito pelas mãos. Esta utilização contínua (manuseamento de óleo e peças metálicas oleosas) pode danificar a barreira natural e comprometer a capacidade do seu organismo combater as infecções fúngicas, por exemplo ao nível da pele e das unhas, o que pode dar origem ao aparecimento de dermatomicoses de difícil tratamento ou constituir uma porta de entrada para infecções mais graves;
- Sinal/sintoma nos colaboradores.

1.3. COLHEITAS

Procedeu-se à colheita asséptica de amostras de tecidos queratinizados (unhas e/ou cutículas) para exame micológico, nas populações estudadas. As amostras foram colhidas, sempre que possível, antes ou após o horário de trabalho, com as mãos limpas/isentas de óleo. As técnicas de colheita de unhas e cutículas descrevem-se seguidamente:

Colheita de unhas e cutículas:

A colheita de unhas efectou-se cortando-se a unha com o auxílio de uma tesoura estéril/desinfectada; a colheita de cutículas efectuou-se raspando a cutícula com a ajuda de um

bisturi estéril/desinfectado. O material raspado/cortado foi recolhido para o interior de um criotubo esterilizado.

Os criotubos foram devidamente identificadas com o número atribuído a cada colaborador, o tipo (se unha ou se cutícula) e a data e hora da recolha. As amostras biológicas provenientes da população foram transportadas até 24 horas após a sua recolha para o Laboratório da ESB onde se efectuou o seu processamento, no sentido de se evitar a contaminação dos prováveis elementos presentes.

Colheita de óleos:

Os óleos foram recolhidos directamente dos tanques das máquinas para o interior de uma criotubo esterilizado devidamente identificado com o tipo de óleo bem como em que máquinas diferentes é utilizado - os óleos de corte colhidos para análise foram retirados directamente das máquinas estando em contacto com todas as partes desta (onde são também aplicados óleos de motor, hidráulicos, de lubrificação, entre outros), com as peças metálicas, as próprias mãos dos colaboradores e o ar; uma vez que o fluido de corte não segue um circuito fechado de refrigeração em nenhuma das máquinas a análise foi efectuada no seu estado de utilização/ produção de peças.

As amostras provenientes dos óleos foram transportadas até 24 horas após a sua recolha para o Laboratório da ESB onde se efectuou o seu processamento, no sentido de se evitar a contaminação dos prováveis elementos presentes.

As técnicas de colheita adoptadas estão descritas como métodos ideais de colheita. Esteves *et al* (1990) refere que na *tinha* das unhas colhem-se fragmentos destas com alicate corta-unhas, com tesoura ou bisturi.

1.4. PESQUISA DIRECTA

1.4.1. EXAME MACROSCÓPICO

O exame macroscópico do material biológico em culturas permite a observação do fungo *in vitro* e de algumas das suas características morfológicas.

Os exames macroscópicos consideram-se negativos quando se observa a ausência de estruturas fúngicas na proximidade do material biológico. Os exames macroscópicos consideram-se positivos quando, se verifica a presença de estruturas fúngicas.

1.5. MÉTODO CLÁSSICO DE ISOLAMENTO DE FUNGOS FILAMENTOSOS E DE FUNGOS LEVEDURIFORMES

1.5.1. CULTURAS

A cultura comprova a viabilidade do fungo e das suas características *in vitro* e permite a identificação do género/espécie do agente causador da lesão constituindo, desta forma, uma técnica complementar do exame macroscópico. A identificação da espécie tem interesse clínico e epidemiológico.

Condições de manuseamento e segurança: A sementeira/cultura das amostras biológicas e óleos efectuou-se em câmara de fluxo laminar, para que se mantivessem as condições de assepsia e se evitassem as contaminações bacterianas e/ou as provocadas por fungos saprófitas.

As unhas e cutículas foram transferidas directamente para placas de petri contendo meios de SDA (Fig. 2);



Fig. 2 – Aspecto de uma placa contendo uma amostra de unha.

Os óleos foram transferidos por espalhamento directo para as placas de petri contendo os meios de cultura SDA(Fig. 3).

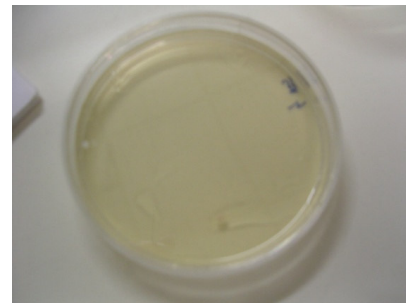


Fig. 3 – Aspecto de uma placa contendo uma amostra de óleo.

• **Sabouraud Dextrose Agar (SDA)**

Peptona Bacteriológica 10 g

Glucose 40 g

Agar 15 g

Preparação do meio de cultura:

Suspender 65 g em 1000 ml de água destilada e cozer o meio, deixando ferver, para dissolução completa.

O pH final deverá ser de 5,6 + 0.2, a 25° C.

Autoclavar e espalhar o meio.

PDA: Potato Dextrose Agar, Sigma.

Usa-se 39g/L (39g PDA num litro de água desionizada). autoclava-se e espalha-se o meio.

MMN: Modified Melin Norkrans Medium:

Para 1 litro:

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ - 0.25g

KH_2PO_4 - 0.5g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.15g

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 0.05g

NaCl - 0.025g

FeEDTA - 0.020g

Glucose - 10g

Extracto de Malte - 3g

Agar - 12g

Tiamina HCl - 100 μl

Ajusta-se o pH a 5.8, autoclava-se e espalha-se o meio.

Cada amostra foi semeada em meio de *Sabouraud Dextrose Agar*.

Com auxílio de ansa estéril, efectuaram-se duas estrias ao longo da superfície dos meios de cultura, rasgando os meios, de forma a promover a criação de condições de relativa anaerobiose. Semearam-se as amostras, inoculando directamente um ou mais fragmentos do produto biológico a analisar nesses dois pontos dos meios de cultura. Os óleos foram transferidos por espalhamento directo para as placas de petri contendo os meios com a ajuda de uma ansa.

Os meios de cultura foram armazenados no laboratório da ESB na sala climatizada a 25° C e 80% de humidade durante 3 a 6 semanas procedendo-se à observação periódica das culturas para verificar a evolução de crescimento das colónias. Os meios de cultura não foram incubados em estufa para as condições se aproximarem às mãos dos colaboradores, expostos à luz solar/iluminação e arejamento. A temperatura de incubação constitui um factor importante nos métodos de isolamento. O armazenamento foi efectuado a $\pm 25^{\circ}$ C, de modo a simular o seu desenvolvimento nas mãos e unhas dos colaboradores. A incubação dos agentes etiológicos responsáveis por infecções fúngicas superficiais pode fazer-se à temperatura ambiente (22 a 30° C) (Esteves *et al.*, 1990).

O período de incubação necessário para o desenvolvimento das colónias é, normalmente, de:

- 15 a 20 dias para fungos dermatófitos;
- 5 a 7 dias para outros fungos filamentosos potencialmente queratinofílicos;
- 24 a 72 horas para fungos leveduriformes.

As leituras efectuaram-se ao fim da primeira, da segunda e da terceira semana a partir da data da sementeira. A interpretação de resultados foi efectuada de acordo com os seguintes critérios:

- Consideram-se negativos → ausência de estruturas fúngicas na proximidade do material biológico (Fig. 4).
- Consideram-se positivos → presença de estruturas fúngicas (Fig. 5).



Fig. 4 – Aspecto de uma cultura negativa.

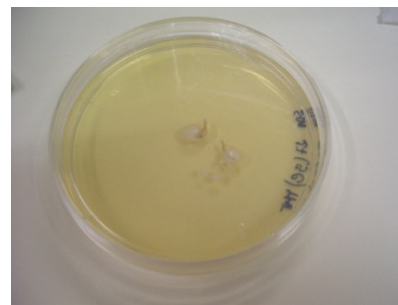


Fig. 5 – Aspecto de uma cultura positiva.

Os meios observaram-se periodicamente e nunca antes de três semanas foram consideradas as culturas como negativas, devido à taxa de crescimento lenta das colónias de fungos dermatófitos.

As colónias dos fungos dermatófitos são algodoadas, penujentas ou aveludadas, conforme a maior ou menor quantidade de micélio aéreo, pulverulentas quando os esporos são abundantes e glabras, lisas ou cerebriformes, mais ou menos elevadas, quando não possuem micélio aéreo. Nalgumas espécies observa-se pigmentação roxa, castanha, vermelha ou amarelada, às vezes mais evidente no reverso da colónia (Esteves *et al.*, 1990).

As colónias dos outros fungos filamentosos potencialmente queratinofílicos apresentam aspectos muito variáveis, de acordo com o género/espécie a que pertencem e são, geralmente, pigmentadas.

As colónias dos fungos leveduriformes são:

- Colónias brancas, cremosas; formadas por células redondas ou ovais, desprovidas de cápsula, isoladas ou em gemulação; com 2 a 4 μ de diâmetro: género *Candida* (Esteves *et al.*, 1990);
- Colónias, em regra, brancas, inicialmente cremosas, depois mais secas, pregueadas, formadas ou não por células gemulantes e pseudomicélio; artrósporos rectangulares abundantes: género *Trichosporon* (Esteves *et al.*, 1990; Hoog e Guarro, 1995);
- Colónias inicialmente brancas, lisas, brilhantes, de bordo inteiro e mucóides. Com o tempo, adquirem cor amarelada ou acastanhada. (Esteves *et al.*, 1990).

O tempo de incubação mínimo para considerar as amostras negativas foi de seis semanas.

1.6. MÉTODO CLÁSSICO DE IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS

A identificação de fungos filamentosos efectua-se, fundamentalmente, pelas características macroscópicas da colónia: cor da frente e reverso da colónia; topografia; textura; bem como pelas suas características microscópicas: presença de macro e/ou microconídeos; tamanho dos esporos; presença/ausência de septos nas hifas e dimensão das mesmas; morfologia do conidióforo.

Condições de manuseamento e segurança: As culturas foram manuseadas em câmara de segurança biológica, com fluxo ligado, para que se mantivessem as condições de assepsia. A câmara de fluxo laminar foi utilizada na repicagem de fungos filamentosos e na realização de

corte de colónias, nomeadamente de espécies fúngicas produtoras de muitos esporos (*Aspergillus ssp.*; *Penicillium spp.*; *Cladosporium spp.*; *Mucor spp.*). Foram utilizadas luvas no manuseamento das diferentes espécies fúngicas e de tudo aquilo que com elas se relaciona (Santos *et al.*, 1998). Após o corte das colónias, as placas de Petri foram isoladas com Parafilm.

1.7. MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS LEVEDURIFORMES

A identificação de fungos leveduriformes assenta em conjunto de características morfológicas e de provas fisiológicas que se complementam entre si, face ao valor limitado de cada prova quando valorizada isoladamente. Não foi feita identificação directa dos fungos nem foram realizadas provas fisiológicas devido à pouca experiência em identificação de fungos por este métodos.

Foram observadas e comparadas todas as cultura e foram seleccionadas para identificação as mais frequentes e com aspecto coincidente com os óleos.

A técnica de repicagem consiste em seleccionar uma área de esporulação de onde se pretende retirar o inóculo e transferir, em condições de assepsia, um pequeno fragmento de micélio para o centro de uma placa ou de um tubo com meio de cultura fresco (Santos *et al.*, 1998).

1.8. MÉTODO DE REPICAGEM

Após o período de incubação, procedeu-se à identificação das colónias de fungos. Para a identificação de fungos foi usado o meio de *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)* em placa quando não se conseguiu culturas positivas repicou-se para meio de *Potato Dextrose Agar (PDA)* em placa e meio de *Modified Melin Norkrans Medium (MMN)* em placa.

A técnica de repicagem consiste em seleccionar uma área de esporulação de onde se pretende retirar o inóculo e transferir, em condições de assepsia, um pequeno fragmento de micélio para o centro de uma placa ou de um tubo com meio de cultura fresco (Santos *et al.*, 1998).

OBTENÇÃO DE CULTURAS PURAS

É fundamental a purificação das culturas em estudo antes de se proceder à sua identificação. O termo purificação refere-se à obtenção de uma cultura livre de outros microrganismos, para poder ser submetida ao processo de identificação (Santos *et al.*, 1998).

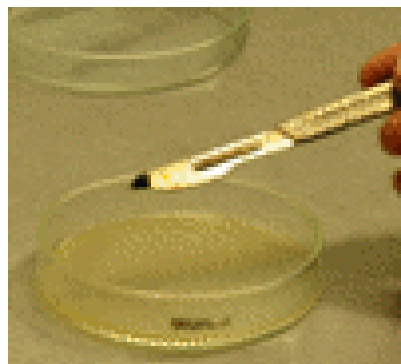


Fig. 6 – Isolamento dos fungos em cultura pura.

1.9. IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS ISOLADOS

Das culturas seleccionadas foi feita extracção de DNA pelos métodos da fervura e pelo protocolo do Kit comercial “PowerSoil[®]DNA Isolation Kit” da Mobio Laboratories, Inc., PCR (e visualização das bandas no gel), purificação e envio das amostras (PCR purificados) para a STAB VIDA – Investigação e Serviços em Ciências Biológicas – para identificação dos fungos; após a sequenciação das amostras por parte da STAB VIDA procedeu-se ao seu alinhamento e procura da sequência no NCBI nucleotid database – comparando-as com culturas puras – conforme abaixo se descreve:

Extracção de DNA método fervura:

1. colocar 300ul de água ultra pura autoclavada num eppendorf
2. Retirar um pedaço de fungo da placa, colocar no eppendorf, desfazer, e fazer vortex.
3. Ferver durante 10 minutos (95°C)
4. Colocar em gelo 7 minutos
5. Fazer vortex
6. Centrifugar durante 5 minutos à velocidade máxima
7. recolher o sobrenadante para um novo eppendorf
8. Descartar o pellet
9. Guardar o sobrenadante no congelador.

PCR:

A mistura de reacção (50 µl) continha 1 µL de DNA template, 1x buffer (Promega, USA), 2 mM de MgCl₂, 250 µM de dNTPs, 0.2 pmol de primers, 1 µl de 20 mg/mL BSA (Fermentas, France) e 2.5 U TAQ polimerase (Promega, USA). As condições de amplificação foram as seguintes: desnaturação a 95 °C durante 5 min, amplificação de 30 ciclos a 95 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s e 72 °C durante 1 min e uma extensão final a 72 °C durante 10 min. Os produtos

PCR correram em 1% (w/v) gel agarose (1xTAE buffer), corado com SYBR® Safe DNA gel corante (Invitrogen, UK) (100 V, 30 min) e visualização das bandas no gel sob uma luz azul.

Purificação e Sequenciação

A técnica utilizada foi pelo GFX PCR e Gel Band Purification Kit (GE Healthcare) e as amostras foram enviadas para sequenciação utilizando ambos os primers ITS1F e ITS4. As sequências ITS dos morfotipos seleccionados foram pesquisados no NCBI nucleotide database; faz-se a análise das sequências genéticas com o programa BioEdit Blast e desenho de primers.

2. APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS

2.1. AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE FUNGOS NOS ÓLEOS DE CORTE DAS METALOMECÂNICAS A E B

Foram estudados os óleos provenientes e recolhidos das Metalomecânica A – 11 óleos – e Metalomecânica B – 6 óleos.

Do total de óleos (n = 17), houve confirmação de presença de fungos (culturas positivas) em 14 culturas (82%), sendo 9 óleos da Indústria Metalomecânica A (82%) e 5 (80%) da Metalomecânica B. Em 3 meios (18%) as culturas foram negativas. Desses, 2 (18%) pertenciam à Metalomecânica A e 1 (20%) pertencia à Metalomecânica B.

QUADRO 2 – Avaliação da presença de fungos nos óleos.

Óleos Metalomecânicas						
	Óleos		Óleos Metalomecânica A		Óleos Metalomecânica B	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Culturas negativas	3	18	2	18	1	20
Culturas positivas	14	82	9	82	5	80
Total	17	100	11	100	6	100

2.2. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE FUNGOS NA POPULAÇÃO DE COLABORADORES DAS METALOMECÂNICAS

Efectuaram-se colheitas de unha(s) dos membros superiores, em cada colaborador das metalomecânicas, totalizando 204 amostras de colaboradores + 1 (fornecedor).

Do total de indivíduos (n = 205), houve confirmação micológica de dermatomicoses (culturas positivas) em 176 culturas (86%),. Em 29 casos (14%) os resultados foram negativos.

Do total de indivíduos da Metalomecânica A (n = 179), houve confirmação micológica de dermatomicoses (culturas positivas) em 171 culturas (85%), sendo 1 do fornecedor da Metalomecânica A. Em 27 casos (15%) os resultados foram negativos sendo 1 do colaborador controlo.

Do total de indivíduos da Metalomecânica B (n = 26), houve confirmação micológica de dermatomicoses (culturas positivas) em 24 culturas (92%). Em 2 casos (8%) os resultados foram negativos sendo 1 do colaborador controlo.

QUADRO 3 – Avaliação da presença de fungos na população por Metalomecânica A e B.

População Metalomecânicas						
	Colaboradores		Metalomecânica A		Metalomecânica B	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Culturas negativas	29	14	26+1 (controlo)	15	1+1 (controlo)	8
Culturas positivas	176	86	151 + 1 fornecedor	85	24	92
Total	205	100	179	100	26	100

2.3. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE SINAIS NA POPULAÇÃO DE COLABORADORES DAS METALOMECÂNICAS CARACTERIZADAS COMO CULTURAS POSITIVAS

Do total de culturas positivas na Metalomecânica A (n = 151), houve sinais nas lesão em 41 indivíduos (27%) (Fig. 7, 8, 9 e 10). Em 110 casos (73%) não foram encontrados sinais evidentes de lesão.



Fig. 7, 8, 9 e 10 – Sinais nas mãos e unhas dos colaboradores da Metalomecânica A.

Do total de culturas positivas na Metalomecânica B (n = 24), houve sinais nas lesão em 20 indivíduos (83%) (fig. 11, 12, 13 e 14). Em 4 casos (83%) não foram encontrados sinais evidentes de lesão.



Fig. 11, 12, 13 e 14 – Sinais nas mãos e unhas dos colaboradores da Metalomecânica B.

QUADRO 4 – Avaliação da presença de sinais nas populações caracterizadas como culturas positivas por Metalomecânica A e B.

População Metalomecânicas						
Só culturas positivas	Colaboradores		Metalomecânica A		Metalomecânica B	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Sinais negativos	114	65	110	73	4	17
Sinais positivos	61	35	41	27	20	83
Total	175	100	151	100	24	100

De um total de n=175 indivíduos com culturas positivas, 61 (35%) apresentam sinal.

2.4. ESPÉCIES DE FUNGOS ISOLADOS NOS COLABORADORES DAS METALOMECÂNICAS E NOS ÓLEOS

Dos 9 fungos diferentes identificados, entre os quais 7 foram encontrados nas unhas dos colaboradores e 5 nos óleos, foi conseguido estabelecer relação em 3 fungos que coincidiram nos dois conjuntos de amostras (fungos coincidentes) (Quadro 5): Não identificado (mas que pelo aspecto e pela sequência é idêntico e foi encontrado no fornecedor de uma máquina da Metalomecânica A – que não apresenta sinal – e no óleo que essa máquina contém), *Rhodotorula mucilaginosa* e *Pichia guilliermondii*.

De um total de n=175 indivíduos

QUADRO 5 – Espécies de fungos isolados nos colaboradores das metalomecânicas e nos óleos.

Fungos Isolados	Colaboradores Metalomecânicas		Óleos Metalomecânicas	
	Nº	%	Nº	%
<i>Penicillium corylophilum</i>	15	8,52	0	0
<i>Aureobasidium populans</i>	21	11,93	0	0
Não identificado	23+1	13,64	1	7,14
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	44	25	5	35,71
<i>Debaryomyces hansenii</i>	10	5,68	0	0
<i>Pichia guilliermondii</i>	33	18,75	6	42,86
<i>Cladosporium sp.</i>	29	16,48	0	0
<i>Basidiomycete yeast sp.</i>	0	0	1	7,14
<i>Gloeotinia temulenta</i>	0	0	1	7,14
Total	175+1	100	14	100

QUADRO 6 – Sinais nos colaboradores com presença das espécies de fungos isolados encontrados nos colaboradores e nos óleos das 2 metalomecânicas.

Fungos Isolados com presença nos óleos e nos colaboradores	Presença Sinal Colaboradores Metalomecânicas		Ausência Sinal Colaboradores Metalomecânicas		Total
	Nº	%	Nº	%	Nº
Não identificado	5	13	19	29+1	24
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	15	40	29	46	44
<i>Pichia guilliermondii</i>	18	47	15	24	33
Total	38	100	63	100	101

3. DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Confirma-se a presença de fungos nos óleos de corte e nas unhas dos colaboradores, não conseguindo identificar a origem dos fungos; se os óleos de corte contém fungos e, por contacto com o óleo, contaminam as mãos e unhas dos colaboradores se o contrário, se os fungos estão presentes nas mãos e unhas dos colaboradores e, por contacto, são transmitidos aos óleos ficando estes contaminados – possível trabalho futuro.

Conseguiu-se identificar grande parte dos fungos existentes nas amostras e conseguiu-se relacionar 3 fungos presentes nos óleos e nos colaboradores que manuseiam o óleo, entre os quais - *Rhodotorula mucilaginosa* e *Pichia guilliermondii*.

Dos fungos relacionados entre os óleos e os colaboradores:

- Não identificado – Isto indica que estes isolados devem representar novos grupos de DSEF ou “dark septate” ainda não estudados, e ainda no caso do isolado o qual apresentou similaridade menor que 90% com outros fungos na análise pelo BLAST, pode representar uma nova espécie ou género ainda não descrito, ou pelo menos não identificado molecularmente.

- *Rhodotorula mucilaginosa* – As espécies *Rhodotorula* são frequentemente isoladas do solo, água, ar, suco de frutas, laticínios e outros substratos vulgarmente encontrados no ambiente humano tais como cortinas de chuveiro e escovas de dentes (Kwon-Chung e Bennett, 1992; Warren e Hazen, 1999). No homem pode colonizar a pele, a unha, trato respiratório, genito-urinário e gastrointestinal (Jennings e Bennet, 1972; Rose *et al.*, 1966; Khatib *et al.*, 2001; Oyeka e Ugwu, 2002; Nowakowska *et al.*, 2004). Segundo Silva *et al.* (2003), um estudo de prevalência de fungos isolados das mãos de estudantes de medicina no Chile, a *Rhodotorula mucilaginosa* foi a levedura mais frequentemente isolada. Segundo Louria *et al.* (1960) um outro estudo demonstrou que, na presença de disseminação, a levedura é prontamente digerida e inactivada pelos leucócitos polimorfonucleares. A ocorrência de infecções causadas por fungos incomuns, dentre os quais a *Rhodotorula spp.* tem sido cada vez mais relatada.

- *Pichia guilliermondii* – também conhecida como *Candida guilliermondii* tem vindo a ser isolada como origem de inúmeras infecções, principalmente cutânea; é um patogénico oportunista. É, então uma espécie rara de *Candida*, mais frequentemente associada com onicomicoses, sendo raramente vista como uma causa de infecção fúngica invasiva (Pfaller *et al.*, 2006). Existe pouca informação relacionada com a epidemiologia e frequência de ocorrência desta espécie rara de *Candida*. A “Directiva 2004/116/CE da Comissão, de 23 de Dezembro de 2004”, no seu ponto 2, “conclui que a utilização de *Candida guilliermondii* cultivada num substrato de origem vegetal (melaços de cana de açúcar) não representa um risco para a saúde humana, a saúde animal ou o ambiente”.

Considerando a natureza dos agentes etiológicos identificados, no presente trabalho, foi obtida uma predominância de fungos não dermatófitos em relação a fungos dermatófitos. O papel das leveduras e dos fungos filamentosos não dermatófitos como agentes causadores de dermatomicoses ainda não se encontra devidamente esclarecido, e a sua prevalência tem variado consideravelmente em diferentes estudos (Evans, 1998 e Tosti *et al.*, 2000 citados por Järv *et al.*, 2004). Muitas dessas espécies poderão ser contaminantes mas também serão capazes de causar infecção.

Dos resultados, podemos concluir que o facto de existirem infecções causadas por fungos filamentosos não dermatófitos, poderá indicar que existem espécies anteriormente consideradas como ambientais ou contaminantes que, em contacto com o Homem, e sob determinadas condições, se podem tornar patogénicas.

Na pesquisa bibliográfica efectuada foram encontrados vários estudos relativos ao estudo da prevalência de dermatomicoses, sobretudo onicomicoses, na população saudável. Na sua maioria, os resultados são indicativos da predominância e da importância dos fungos dermatófitos como agentes patogénicos deste tipo de infecções, salienta-se, no entanto, o papel etiológico, ainda que controverso, de algumas espécies de leveduras e de outros fungos filamentosos queratinofílicos como agentes oportunistas de infecções fúngicas superficiais (Rosado e Teles, 1989; Torres-Rodriguez e López-Jodra, 2000; Araújo *et al.*, 2003; Järv *et al.*, 2004; Onychomycosis, 2007).

Está descrito que, nas onicomicoses, uma superinfecção com um segundo agente patogénico ocorre numa fase avançada de uma infecção não tratada (Baran *et al.*, 1998 citados por Järv *et al.*, 2004). A frequência de infecções mistas poderá estar relacionada com o facto de alguns colaboradores só marcarem uma consulta por motivos Dermatológicos já num estado avançado da infecção. As razões poderão ser sócio-económicas, como o custo de uma consulta médica especializada e do tratamento e da sua eficácia, ou poderão estar relacionadas com os hábitos culturais, como a atitude perante uma infecção fúngica superficial constituir apenas um simples problema estético. De acordo com Araújo *et al.* (2003), muitos pacientes com unhas anormais não estão cientes de que podem ter onicomicoses nem de que essas infecções são tratáveis.

A relação entre a concentração do agente patogénico e a severidade da sua acção é bem conhecida para muitas infecções. A candidose ungueal é causada por leveduras do género *Candida*, principalmente a *C. albicans* (outros géneros: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. stellatoidea*, *C. guilhermondii* e *C. pseudotropicalis*). É um fungo oportunista que pode ser encontrado na pele e nas mucosas de indivíduos normais, como comensal; a interferência de vários factores pode torná-lo patogénico e provocar lesões nas unhas e na pele. A avaliação

micológica deve, no entanto, ser valorizada conjuntamente com a clínica, afim de se averiguar o provável comensalismo ou patogenia da levedura isolada.

4. CONCLUSÕES

Foi confirmada a presença de dermatoses nas mãos e unhas de trabalhadores expostos aos óleos.

Foi confirmada a presença de fungos nos óleos de corte e nas mãos e unhas dos colaboradores.

Os fungos mais frequentes nos óleos de corte foram também os mais frequentes nas unhas: *Rhodotorula mucilaginosa* e *Pichia guilliermondii*.

De um total de 175 indivíduos com culturas positivas, 61 (35%) apresentam sinal de dermatoses – só culturas positivas.

Não foi possível avaliar com exactidão se a exposição a óleos de corte provoca a ocorrência de dermatoses.

BIBLIOGRAFIA

[1] – Projecto METALAMB – Acção de divulgação da caracterização da situação ambiental, 9 de Novembro de 1999.

[2] – Paulo Ferrão, Ângela Canas (Engenharia e Tecnologia 2000), “Estudo Horizontal Ambiente”.

[3] – Ângela Lobo, Maria Luís Albuquerque (GEPE – Gabinete de Estudos e Prospectiva Económica do Ministério da Economia), “Metalurgia – Desafios ao Sector”.

[4] – Ministério da Economia, Ministério do Ambiente, Novembro de 2000, Plano Nacional de Prevenção dos Resíduos Industriais.

ALI, S.A. *Dermatoses Ocupacionais*. São Paulo: Fundacentro, 1994.

ADAMS, R. M. *Occupational skin disease*. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1990.

ALI, S. A. *Dermatoses ocupacionais*. In: MENDES, R. (Ed.). *Patologia do trabalho*. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995.

AMERICAN CONTACT DERMATITIS SOCIETY. Consensus of the American Contact Dermatitis Society: diagnosis of allergic contact dermatitis. [S. l.: s. n.], nov. 1994.

BIRMINGHAM, D. J. Overview: occupational skin diseases. In: STELLMAN, J. M. (Ed.). *Encyclopaedia of occupational health and safety*. 4th ed. Geneva: International Labour Office, 1998.

Inspecção Geral do Ambiente e do Ordenamento do Território – Metalomecânicas 2004.

Pfaller, M.A. Diekema, D.J. Mendez, M. Kibbler, C. Erzsabet, P. Chang, S.C. Gibbs, D.L. Newell, V.A. and the Global Antifungal Surveillance Group. (2006). *Candida guilliermondii*, as Opportunistic Fungal Pathogen with Decreased Susceptibility to Fluconazole: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program. *Journal of Clinical Microbiology*.

Alteras, I. e Saryt, E. (1979). Prevalence of pathogenic fungi in the toe-webs and toe-nails of diabetic patients. *Mycopathologia*.

- Araújo, A.J.G., Bastos, O.M.P., Souza, M.A.J. e Oliveira, J.C. (2003). Ocorrência de onicomiose em pacientes atendidos em consultórios dermatológicos da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *An bras Dermatol*,
- Badillet, G., Bièvre, C. e Guého, E. (1987). *Champignons contaminants des cultures. Champignons opportunistes*. Atlas clinique et biologique. Tome I. Éditions Varia. Paris.
- Badillet, G. (1995). *Dermatophyties et Dermatophytes. Atlas Clinique et Biologique*. 3th Édition. Éditions Varia. Paris.
- Bergold, A.M. e Georgiadis, S. (2004). Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. *Visão Acadêmica*,
- Bernhardt, H., Schulz, K. e Knoke, M. (1996). Mixed *Candida* isolations. Clinical occurrence and cultivations in a continuous flow culture. *Proceedings of the 3rd meeting of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM)*. Lisboa, 9-11 May 1996.
- Caprilli, F. e Crescimbeni, E. (1987). Attività *in vitro* di alcuni farmaci antimicotici. Parte I: Campo di sensibilità di ceppi del genere *Candida, Microsporum and Epidermophyton*. *Micologia Dermatológica*.
- Collier, L., Balouws, A. e Sussman, M. (1999). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections Microbiology - Medical Mycology*. Volume 4. 9th Edition, Hodder Headline Group. London.
- Difco Laboratories. (1996). *1996/97 Product Catalog for Microbiology*. Detroit.
- Drouhet, E. e Dupont, B. (1978). Sensitivity of fungi to antifungal compounds. *Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd.*.
- Enweani, I.B., Ogbonna, C.I. e Kozak, W. (1987). The incidence of candidiasis amongst the asymptomatic female students of the University of Jos, Nigéria. *Mycopathologia*.
- Esteves, J.A., Cabrita, J.D. e Nobre G.N. (1990). *Micologia Médica*. 2^a Edição, Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa.
- Esteves, J.A., Poiars Baptista, A., Guerra Rodrigo, F. e Marques Gomes, M.A. (1990). *Dermatologia*. 2^a Edição, Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa.
- Faggi, E., Pini, G., Campisi, C., Bertellini, C., Difonzo, E. e Mancianti, F. (2001). Application of PCR to distinguish common species of dermatophytes. *J Clin Microbiol*.

- Fusconi, A. e Filipello Marchisio, V. (1991). Ultrastructural aspects of the demolition of human hair in vitro by *Chrysosporium tropicum* charmichael. *Mycoses*.
- Ghannoum, M.A., Edwards, K.E. e Edwards Jr, J.E. (1995). Pathogenesis of fungal infections. Em: F., Meunier (ed.), *Invasive fungal infections in cancer patients*, Baillière Tindal. London.
- Grigoriu, D. e Delacrétaz, J. (1979). *Genital and perigenital candidosis*. Nº 2. Cilag-Chemie. Germany.
- Grigoriu, D., Delacrétaz, J. e Borelli, D. (1987). *Medical Mycology*. Editiones Roche. Basle.
- Grillot, R. (1996). *Les Mycoses Humaines: Démarche Diagnostique*. Collection Option Bio. Elsevier.
- Gugnani, H.C. (2002). Nondermatophytic fungi: their role in nature and human infection. *Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi*.
- Jessup, C.J., Warner, J., Isham, N., Hasan, I. e Ghannoum, M.A. (2000). Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *J Clin Microbiol*.
- Lacaz, C.S. (1960). *Manual de Micologia Médica*. Atheneu. Rio de Janeiro.
- Liu, D., Coloe, S., Baird, R. e Pedersen J. (2000). Application of PCR to the identification of dermatophyte fungi. *J. Med. Microbiol*.
- Liu, D., Pearce, L., Lilley, G., Coloe, S., Baird, R. e Pedersen J. (2002). PCR identification of dermatophyte fungi *Trichophyton rubrum*, *T. soudanense* and *T. gourvillii*. *J. Med. Microbiol*.
- Lodder, J. (ed.). (1970). *The yeasts. A taxonomic study*. North-Holland Publishing Company. Amsterdam/London.
- Martins, M.L.M. (1993). *Dermatófitos e sua ocorrência em Portugal*. Trabalho de Síntese apresentado no âmbito das provas de acesso à categoria de Assistente de Investigação. Instituto de Higiene e Medicina Tropical – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- Mendeling, W. (1988). *Vulvovaginal candidosis. Theory and practice*. Springer-Verlag. Berlin.
- Odds, F.C. (1995). Testing antifungal sensitivity: is it worth the trouble? Proceedings of the 2nd meeting of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM). Congress Centre, Brussels, 27-29 April 1995.

Ramos-e-Silva, M. (1995). Infecções cutâneas por fungos – micoses superficiais. [Versão electrónica]. Apoio à Residência Médica, 1 (1): 5-10. Acedido em: 13 de Agosto de 2007, em: <file:///G:/Dissertação%20de%20Mestrado/Artigos/Infecções%20cutâneas%20por%20fungos%20-%20micoses%20superficiais.htm>.

Rosado, M.L. e Teles, R. (1989). Micoses nos pés, numa amostragem colhida numa fábrica de montagem de automóveis numa região industrial dos arredores de Lisboa. *Arquivos do Instituto Nacional de Saúde*.

Ryley, J.F. (1986). Pathogenicity of *Candida albicans* with particular reference to the vagina. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*.

Sabino, R.F.P. (2002). *Fungos potencialmente queratinofílicos – suas implicações clínicas e ambientais* –. Tese de estágio profissionalizante do Curso de Biologia Microbiana e Genética. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa.

Sandi, R.L. e Rogers, A.L. (1982). Inhibition of adherence of *Candida albicans* to human epithelial cells. *Mycopathologia*.

Santos, I.M., Venâncio, A. E Lima, N. (1998). *Fungos contaminantes na indústria alimentar*. Micoteca da Universidade do Minho/Centro de Engenharia da Universidade do Minho. Braga.

Segretain, G., Drouhet, E. e Mariat, F. (1987). *Diagnostic de laboratoire en Mycologie Médicale*. Maloine. Paris.

Senet, J.M. e Robert, R. (1995). Physiopathologie des candidosis. *J. Mycol. Méd.*

Shu-Hui Tan, C., Hoekstra, E. e Samson, R. (1994). *Fungi that cause superficial mycoses*. Centraalbureau voor Schimmel cultures. Belgium.

Simpanya, M.F. (2002). Dermatophytes: their taxonomy, ecology and pathogenicity. *Biology of Dermatophytes and other Keratinophilic Fungi*.

Sobel, J.D. (1996). *Fungal diseases in Genitourinary Medicine*. Em: C.C., Kibbler, D.W.R., Mackenzie e F.C., Odds (eds.), *Principles and practice of Clinical Mycology*, Jonh Wiley & Sons. Chichester.

Torres-Rodríguez, J.M. (1996). In vitro susceptibility tests for antifungals drugs. *Proceedings of the 3rd meeting of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM)*. Lisboa, 9-11 May 1996.

Torres-Rodríguez, J.M. e Carceller, A. (1993). Factores de patogenicidad en *Candida*. *Revista Iberoamericana de Micología*.

Torres-Rodríguez, J.M. e López-Jodra, O. (2000). Epidemiology of nail infection due to keratinophilic fungi. *Rev. Iberoam. Micol.*

Järv, H., Naaber, P., Kaur, S., Eisen, M. e Silm, H. (2004). Toenail onychomycosis in Estonia. *Mycoses*.

- PASSMAN, F. J. (1988) - Starting from Scratch: Microbial problems in metalworking fluid, *Lubrication Engineering*, 44,5, pp 431-433.

- PASSMAN, F. J.; ROSSMORE, H. W. (2002) – Reassessing the health risks associated with employess **exposure to metalworking fluid microbes**, *Lub. Engr.*, 58,7, pp 30-38.

<http://www.dgs.pt/ms/10/default.aspx?id=5523>

<http://www.arslvt.min-saude.pt/ARSLVT/EstruturaOrganica/Paginas/SAUDEOCUPACIONAL.aspx>

<http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/informacoes+uteis/saude+no+trabalho/doencasprofissionais.htm>

<http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/prevencao/AcidentesTrabalho.htm>

<http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/informacoes+uteis/saude+no+trabalho/doencasprofissionais.htm>

http://wiki.ued.ipleiria.pt/wikiEngenharia/index.php/Introdu%C3%A7%C3%A3o_Molda%C3%A7%C3%A3o_por_Injec%C3%A7%C3%A3o

<http://www.iarc.fr/>

<http://www.epa.gov/enviro/html/emci/chemref/>

http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/agosto2005/ju298pag11.html

http://www.ifm.org.br/noticia/pub/noticia_det.php?id_noticia=194&caminho=/primeira_pg.php

http://209.85.135.104/search?q=cache:5WJ8QdzUskoJ:portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/06_0553_M.pdf+dermatoses+fungos+ou+bacterias+em+oleos&hl=pt-PT&ct=clnk&cd=11&lr=lang_pt

http://209.85.135.104/search?q=cache:5WJ8QdzUskoJ:portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/06_0553_M.pdf+dermatoses+fungos+ou+bacterias+em+oleos&hl=pt-PT&ct=clnk&cd=11&lr=lang_pt

<http://www.ronet.com.br/lcfdores/saude.html>

<http://www.engtrab.com.br/dermatose.htm>

<http://www.srt.gov.ar/nvaweb/super/eventos/2006/15demarzo/cd/contenidos/libro/secsoc/anexoi/listabra.html>

http://209.85.135.104/search?q=cache:MgouMyDIHFqJ:www.ifm.org.br/congresso/inscritos/teste2.php%3Fid_trabalho%3D350+fungos+em+oleos+de+corte+metalurgica&hl=pt-PT&ct=clnk&cd=8&lr=lang_pt

<http://www81.dataprev.gov.br/sislex/paginas/23/1999/ANx3048.htm>

ANEXO I

CONSENTIMENTO INFORMADO

PRESENÇA DE MICRORGANISMOS EM ÓLEOS DE CORTE E SUA RELAÇÃO COM A SAÚDE OCUPACIONAL

Este estudo tem por finalidade a investigação da existência de microrganismos (fungos) presentes nos óleos de corte das metalomecânicas e nas mãos e unhas dos colaboradores, com o objectivo de o (s) identificar e pesquisar seus efeitos na saúde (nomeadamente dermatoses) e no ambiente.

A colheita das amostras é feita pela Dra. Mariana Carvalho.

As identidades do indivíduo e empresa serão mantidas em sigilo. Os dados no estudo serão divulgados na literatura especializada.

Termo de concordância:

Eu, _____, portador do B.I. n.º _____ emitido em __/__/____ no arquivo de _____, colaborador da empresa _____, com o n.º _____ estou ciente e de acordo com os termos de realização desta pesquisa e autorizo, por meio deste, a recolha de amostras de unhas e/ou cutículas, bem como registo fotográfico e a publicação dos resultados obtidos no presente estudo, sendo a minha identidade mantida em sigilo. A participação é isenta de despesas.

Concordo em participar neste voluntariamente neste estudo sendo que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo.

Oliveira de Azeméis, ____ de _____ de 2007.

Nogueira do Cravo, ____ de _____ de 2007.

Ass. _____