



ARTIGO ORIGINAL

Fungos em péletes de laranja e alergia respiratória em trabalhadores da indústria citrícola

Association between fungi from orange pellets and respiratory allergy in workers of citrus plant.

Rodolpho J. C. Pinto¹, Júlio Croce², Jorge Kalil³, Maria J. M. Giannini⁴,
Paulo I. Costa⁵, Walderez Gambale⁶

Resumo

Objetivos: Na indústria citrícola, a casca e o bagaço da laranja são prensados, macerados e desidratados em um forno a 800°C, convertendo-se em grãos denominados péletes. Observamos que o seu manuseio parecia estar relacionado com alergia respiratória, o que suscitou essa pesquisa com o objetivo de determinar a prevalência desses sintomas na amostra estudada e esclarecer a natureza do(s) alérgeno(s) envolvido(s).

Métodos: Estudo realizado na indústria e pátios de caminhões onde foram coletadas amostras de péletes e foram isolados fungos segundo técnicas micológicas padronizadas. Operários e caminhoneiros (n=56) foram submetidos a questionário, testes cutâneos de leitura imediata (extratos Alk-Abelló) e coleta de sangue (dosagem de IgE específica por quimioluminescência).

Resultados: Em 57 amostras de péletes, 86% apresentavam crescimento de fungos, predominantemente dos gêneros: *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Penicillium*. Encontrou-se 35,7% de sintomáticos respiratórios. A positividade de testes cutâneos para fungos (38,5%), entre a população de caminhoneiros sintomáticos foi significativa ($p < 0,015$). As dosagens de IgE específicas corroboraram as evidências clínicas, uma vez que 92,3% dos soros testados de caminhoneiros com sintomas respiratórios de alergia foram positivos para fungos, contrapondo-se aos grupos controles cuja positividade foi de 7,4% ($p < 0,001$).

Abstract

Objective: The orange peel and the rind, after maceration and dehydration under the temperature of 800°C, are compacted into pellets to be used as food supplement for cattle. The workers who handle these materials have respiratory symptoms. We had as objectives to estimate the prevalence of the symptoms and clarify the nature of the allergens involved in this process.

Methods: Fungi were isolated from the pellets using standard mycological techniques. Truck drivers and packing workers (n=56) were submitted to a questionnaire, *prick tests* (Alk-Abelló) and blood samples were collected (specific IgE dosage through chemiluminescence).

Results: 86% out of 57 pellets samples presented fungi. Five genera were identified: *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Trichoderma* and *Penicillium*. It was found that 35,7% of the workers, among the population studied, presented respiratory symptoms. Positive skin tests to fungi were found in 38,5% of the truck drivers, which is significantly more than the average reported in the literature ($p < 0.015$). The level of specific IgE to fungi followed the clinical data, since 92,3% of subjects with clinical manifestation had significant antibody titers whereas in the control group positive titers were seen in only 7,4% of individuals ($p < 0.001$).

Conclusões: Caminhoneiros expostos a aerodispersíveis provenientes de péletes da laranja podem desenvolver alergia respiratória por mecanismo de hipersensibilidade tipo I, induzida por fungos, que contaminam este material.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2003; 26(4):152-158 fungos, alergia, laranja, ração, trabalhadores.

Conclusions: The truck drivers who work with orange pellet can develop respiratory allergy (Type I Hypersensitivity) being fungi the main allergens involved.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2003; 26(4): 152-158 fungi, allergy, orange, workers.

1 – Mestre em Medicina; 2 – Prof. Emérito; 3 – Prof. Titular, da disciplina de Imunologia Clínica e Alergia, FMUSP; 4 – Livre Docente da Disciplina de Micologia Clínica, FCF, UNESP/Arq; 5 – Prof. da Disciplina de Imunologia Clínica, UNESP; 6 – Prof. Titular da Disciplina de Micologia, FMUSP.

Introdução

Nas cidades de Araraquara e Matão, situadas ao nordeste do Estado de São Paulo, a citricultura¹ e a industrialização da laranja² estão entre as principais atividades que concentram um grande contingente de trabalhadores, que perpassam por estes processos, em contato íntimo com a laranja, seus componentes químicos, defensivos agrícolas e fungos que a contaminam seja no pomar, no armazenamento, nas indústrias ou mesmo nos caminhões que transportam seus resíduos industriais, veiculados em forma de péletes. Tais produtos nada mais são do que a casca e o bagaço da laranja macerados, prensados e desidratados em um forno à temperatura de 800 graus centígrados, transformando-se em grãos capsuliformes, de consistência pétre e coloração marrom-esverdeada, que são exportados como ração para animais. Recentemente, estes produtos começaram a ser distribuídos em nosso território.

No decorrer da última década observamos certa relação entre queixa de alergia respiratória e manuseio dos referidos péletes³ o que suscitou o escopo dessa pesquisa. Após visita a uma indústria citrícola e compreensão do processo de produção da ração de laranja, verificamos a grande variedade de alérgenos a que estes trabalhadores poderiam estar expostos⁴⁻⁶, tais como: antígenos proteicos oriundos das próprias frutas cítricas⁷, ácaros e diversas espécies de fungos⁸. Em recente levantamento bibliográfico sobre a pesquisa em questão encontramos vasta literatura abordando o tema fungos e alergia respiratória⁹⁻¹², mas até a presente data não encontramos qualquer menção ao binômio péletes da laranja e alergia respirató-

ria. Tivemos o objetivo de mensurar a prevalência de alergia respiratória nesses trabalhadores e identificar o(s) antígeno(s) responsável(is) pelo desencadeamento dos sintomas.

Métodos

Primeira fase: em visita a uma indústria citrícola, situada na cidade de Matão, foi aprendido o processo de produção dos péletes, sendo coletadas 15 amostras. Nos pátios de caminhões carregados com péletes foram retiradas, aleatoriamente, 42 amostras nos meses de inverno e de verão

O próprio autor, com luvas, coletou as amostras de péletes, colocando-as em placas de Petri estéreis. As amostras foram semeadas em meios de cultura para fungos e repicadas em ágar Sabouraud a fim de preparar microcultivos e obter colônias gigantes para posterior identificação. Finalmente, foram montadas lâminas de todas as colônias¹³.

Segunda fase: Adotou-se como critérios de inclusão os seguintes parâmetros:

1. Sintomas rinoconjuntivais ao manuseio dos péletes, não relacionados a sintomas gripais.
2. Tosse, chiado e dispnéia obedecendo aos critérios acima.
3. Exame físico: rinoscopia e ausculta pulmonar (palidez da mucosa nasal e sibilância).

Casuística (indivíduos do sexo masculino, faixa etária entre 20 e 56 anos, expostos ao manuseio de péletes há mais de seis meses).

Grupo I - Sintomáticos respiratórios que manuseiam péletes em caminhões = 13 indivíduos. (13/56 = 23,2% ou 13 em 31 caminhoneiros = 42%).

Grupo II - Sintomáticos respiratórios que manuseiam péletes nas indústrias = 7 indivíduos (7/56 = 12,5% ou sete em 25 operários = 28%).

Grupo III - Assintomáticos que manuseiam péletes = 36 indivíduos. (36/56 = 64,2%).

Grupo IV - Amostra aleatória da população em geral da cidade de Matão = 27 indivíduos controle.

Grupo V - Sintomáticos da população em geral da cidade de Matão = 27 indivíduos controle.

A abordagem desses indivíduos obedeceu às normas propostas pela Comissão de Ética Médica.

Testes cutâneos de leitura imediata¹⁴: realizados com a técnica de puntura com extratos Alk-Abelló (Dinamarca) de: *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Cladosporium herbarium e fulvum*¹⁵, *Aspergillus sp*, *Rhizopus sp*¹⁶, *Alternaria sp*^{17,18}, *Penicillium notatum* e *expansum*¹⁹. Não foram realizados em duplicata em face das dificuldades inerentes a um trabalho de campo.

Dosagem de IgE sérica Específica²⁰

Fungos e ácaros: por quimioluminescência, utilizando o analisador IMMULITE (patente americana nº 4778751). IgE específica para laranja: através de fluoroenzimaimunoensaio utilizando o UNICAP 100 (PHARMACIA Diagnostics). Considerados positivos resultados iguais ou acima de 3,5 Ku/l.

Análise estatística²¹:

A análise de dados consistiu em análises de tabelas de contagens, cruzando as variáveis duas a duas, usando os testes Qui-quadrado e o teste

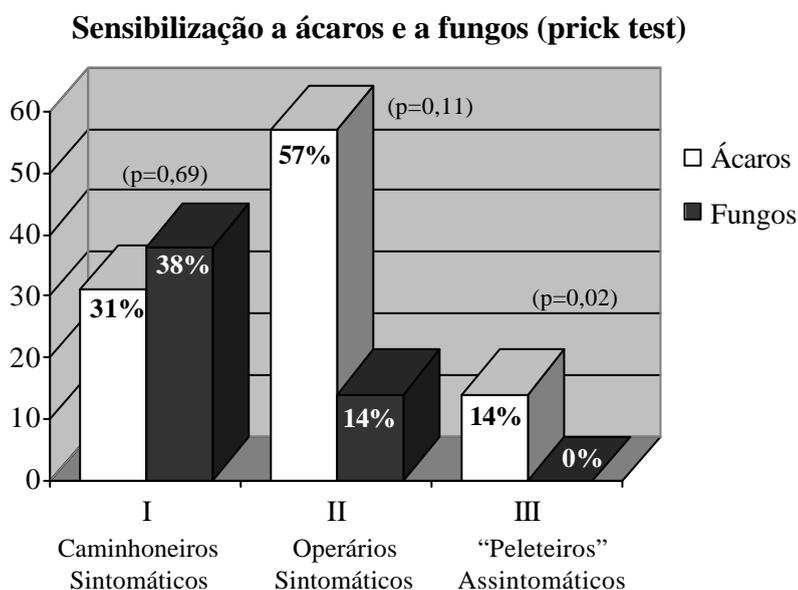
Exato de Fisher. As demais análises foram feitas usando métodos não-paramétricos. Para comparar a média das amostras de mais de dois grupos foi feita uma análise de variância não-paramétrica (Kruskal-Wallis). O grau de associação foi medido através do coeficiente de correlação de Spearman. O nível de significância usado em todos os testes foi de 5%.

Resultados

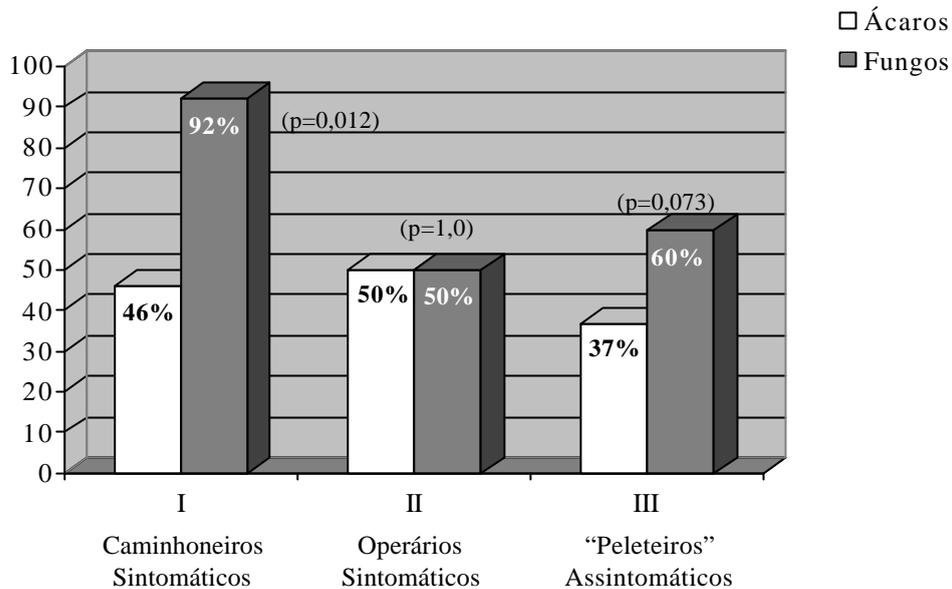
Foram entrevistados 31 caminhoneiros e 25 operários, dos quais 35,7% apresentavam sintomas respiratórios, perfazendo 13 caminhoneiros (42%) e sete operários (28%). Em ordem decrescente de frequência foram relatados os sintomas rinite, tosse, chiado e dispnéia.

Em 57 amostras de péletes, 86% revelaram crescimento de fungos sem diferenças significativas entre a prevalência de fungos nas placas coletadas na indústria ou em caminhões.

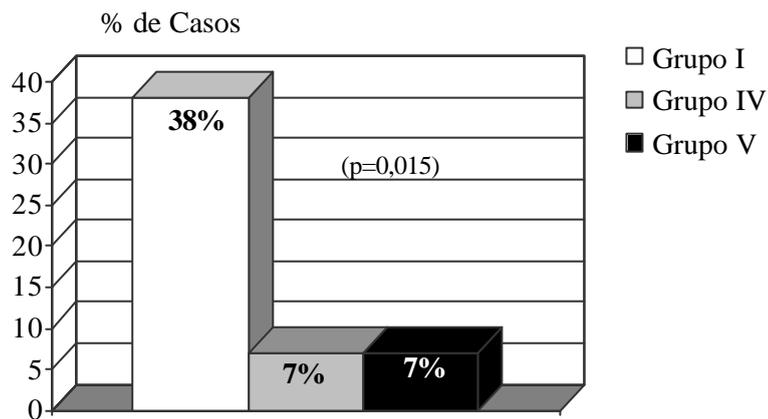
Registrou-se 38,5% de positividade aos testes cutâneos com extratos de fungos entre os caminhoneiros e 14% entre os operários enquanto as dosagens de IgE resultaram em 92% de reatividade e 50%, respectivamente (foram analisados o soro de apenas seis operários em vista da inadequação da dieta de um dos indivíduos). A comparação com a sensibilização a ácaros é demonstrada nos gráficos.



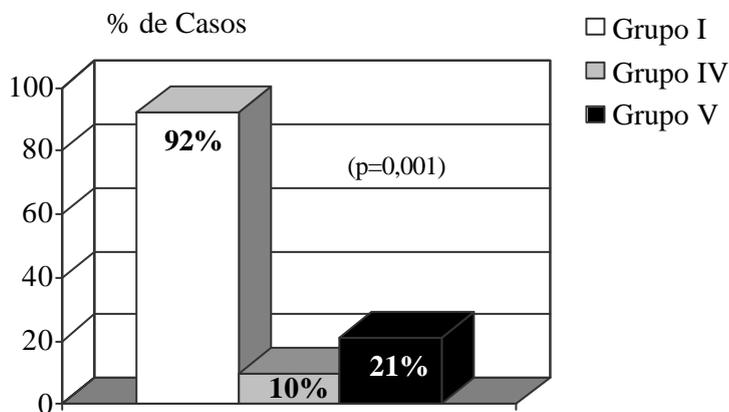
Sensibilização a ácaros e a fungos (rast)



Sensibilização a fungos segundo "Prick-test"



Sensibilização a fungos (IgE sérica)



Discussão

A prevalência de sintomas demonstra o alto potencial antigênico dos péletes colonizados por fungos, pois encontramos mais de um terço dessa população sensibilizada e é no grupo dos caminhoneiros que tem justamente contato mais duradouro, que a incidência de sintomas se torna mais pronunciada.

A freqüente referência de espirros como a mais constante queixa e asma declarada poucas vezes relatada, denota o caráter ocupacional da doença em questão. Provavelmente, aqueles trabalhadores que se sensibilizam mais fácil e fortemente, afastam-se naturalmente dessas atividades e por isso os sintomas mais graves não foram observados entre os nossos entrevistados.

Surpreendentemente, o crescimento de fungos na maioria das placas, inclusive naquelas recém saídas de altas temperaturas²², reflete a sua enorme predileção por estes materiais.

A presença de altos índices de positividade aos testes cutâneos para fungos (cinco casos positivos em 13 = 38,5%), entre os caminhoneiros sintomáticos, veio coroar a hipótese primeira quanto à acentuada participação destes na etiologia dessa doença. A marcante positividade das IgE para fungos (92,3%) consubstanciou esse fato, não deixando dúvidas quanto à sensibilização desses trabalhadores²³.

As observações contidas no grupo II (“peleteiros” sintomáticos das indústrias), conquanto seja reduzido o número da amostra, apontam indícios de que os sintomas sejam causados pelos fungos. Credita-se ao pouco tempo que os péletes permanecem dentro das fábricas e à automatização, o fato dos operários se sensibilizarem menos do que os caminhoneiros. Entretanto, é imperioso observar que o índice de soro-positivos aos fungos (50%) e de testes cutâneos (14,28%) está, assim mesmo, acima da média encontrada nas pesquisas referentes à sensibilização a fungos de uma maneira geral²⁴.

Quanto aos trabalhadores assintomáticos (grupo III), foi interessante observar que a grande prevalência de sensibilização remete ao alto potencial antigênico dos péletes colonizados por fungos²⁵, sendo crível, que este grupo, gradativamente, passe a não expressar os sintomas decorrentes da exposição a esses produtos.

Para verificar a sensibilização a antígenos da laranja²⁶ optou-se por usar o método de Elisa, não se observando casos de positividade nas reações, o que era de se esperar, uma vez que os péletes são sólidos e seria necessário que as proteínas de alto peso molecular da laranja se comportassem como poluentes aerodispersíveis, para uma vez inalados, poderem sensibilizar os trabalhadores.

Embora os dados aferidos com a pesquisa tenham sido conclusivos quanto à sensibilização a fungos em caminhoneiros sintomáticos, a aparente discrepância estatística entre os testes cutâneos positivos (38%) e presença de IgE específica (92%) enseja alguns comentários: acreditamos que ocorra automedicação habitualmente, em especial com antialérgicos e a exclusão deste fator é prejudicada por ser um trabalho de campo, ou às vezes, por não se lembrarem quando inquiridos a respeito. Por conseguinte, alguns testes cutâneos podem ter sido falso negativos. Refutamos a possibilidade de baixa especificidade do método empregado ao nos ampararmos nos resultados aferidos dos grupos controles.

A análise dos dados referentes à sensibilização a ácaros²⁷ revelou paridade com os dados da literatura, situando-se a prevalência, no grupo dos caminhoneiros, abaixo da encontrada para fungos.

Alguns resultados, aparentemente díspares, merecem algumas conjecturas quanto às suas causas: os “peleteiros” assintomáticos que apresentaram forte reatividade aos ácaros talvez tenham apresentado reações cruzadas com ácaros de estocagem presentes nos caminhões e em futuros trabalhos esta hipótese deveria ser também investigada, mormente se estes resultados coincidirem com grupos sintomáticos que estão sendo avaliados.

Conclusões

Em face dos dados obtidos em nossa pesquisa concluiu-se que, indivíduos que manuseiam e transportam péletes da laranja podem apresentar manifestações alérgicas de rinite e asma, sendo os caminhoneiros o grupo mais exposto e por isso também com maior prevalência de sintomas.

“Ad referendum” a maioria de amostras de péletes revelar crescimento de fungos (86%), 92% dos indivíduos da amostra apresentarem resultados positivos para IgE a fungos e *pari passu* a elevada proporção de *prick tests* positivos

(38,5%) a esses microorganismos, concluímos que essa entidade nosológica, a qual sugerimos seja denominada “**Alergia dos Peleteiros**”, comporta-se como doença de hipersensibilidade do Tipo I, mediada por IgE a fungos, podendo ser incluída no rol das doenças profissionais, dado ao seu caráter de exposição ocupacional.

Referências bibliográficas

- Rodriguez O, Viégas FCP, Citricultura Brasileira (Fundação Cargill). Campinas, 1980;Vol I, II: 739p.
- Chimenti H, Fruticultura: Rumo a novos mercados. Jornal da Fruta, Caxias do Sul, junho. 2000 p. 14.
- Akiyama K, The Role of fungal allergy in bronchial asthma. Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi 2000;41(3):149-55 in National Lib of Med (Abstract, Pubmed).
- Austwick PKC. Aerobiology and Allergy - Bull. Seanc Acad Sci, 1998;33:547-60.
- Beckett WS. The epidemiology of occupational asthma. Eur Respir J, 1994;7:161-164.
- Baur X, Chen Z, Liebers V. Exposure-response relationships of occupational inhalative allergens. Clin Exp Allergy 1998;28(5):537-44.
- Sem D, Wiley K, Williams JG. Occupational asthma in fruit salad processing. Clin exp Allergy 1998;28(3):363-7.
- Bush RK. Fungal extracts in clinical practice. Allergy proc 1993;14(6):385-90.
- Croce M, Mansur ERC, Gambale W, Castro FM, Pasquali, Pinto JHP, *et al.* Análise Bioquímica, antigênica e alergênica de Extratos de Hemileia vastatrix (ferrugem do café) Rev. bras. alerg. imunopatol., 1997;20(1):10-17.
- De-wei II, Bryce K. Indoor aeromycota in relation to residential characteristics and allergic symptoms. Mycopathologia, 1995;131:149-157,1995. Kluwer Academic Publishers. (Netherlands).
- Helbling A, Reese G, Horner WE, Lehrer SB. Current aspects of fungal spores allergy Schweiz Med Wochenschr, 1994;124(21):885-92.
- Morcelli J, Cataneo AJ, Perotti LA, Franco M. Bagassosis. Report of a case. Rev. Hosp Clin Fac Med São Paulo 1985;40:233-36.
- Mishra SK.. Environmental mycology and its importance to public health. J. Med. and Veterinary Mycology, 1992;30(1):287-305.
- Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. Micologia Médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. 8 ed. São Paulo: Editora Sarvier Micologia Médica, 1998; cap. 32 pag. 481.
- Pepys J. Skin testing. Br J Hosp Med, 1975;14(2): 412-7.
- Frost A. Frequency of allergy to *Alternaria* and *Cladosporium* in a specialist clinic. Allergy, 1988; 43(7):504.
- Trufem SFB. Mucorales (Zygomycetes do Estado de São Paulo.) São Paulo, 1978; [Tese de Mestrado - Escola Paulista de Medicina].
- Gambale W, Purchio A, Croce J. Systematic isolation of the genus *alternaria* in the atmosphere of the “Grande São Paulo” area (Brazil). Allergol. et Immunopathol. 1976;2:139.
- Infante F, Dominguez E, Ruiz de Clavijo E, Galan C. Incidence of *Alternaria* Nees ex Fries in dwellings of Cordoba City (Spain). Allergol Immunopathol (Madr) 1987;221-4.
- Lanza G. Control of green mold through hygrothermal conditioning (curing) and perspectives of integrated actions. In: Post harvest treatment of citrus fruits to control decay during storage and marketing. Acireale, 1997;165-178.
- Perfetti L, Hebert H, Lapalme Y, Ghezzi H, Gautrin D, Maio JL. IgE-mediated allergy to ubiquitous inhalants after removal from or diminution of exposure to the agent causing occupational asthma. Clinical and Experimental Allergy, 1998;28: 66-73.
- Dória Filho U. Introdução à bioestatística. São Paulo: Negócio editora, 1999. 152 p.
- Barreiro JA, Vidaurreta JL, Boscan LA, Mendoza S, Saiz E. Thermal resistance of *Candida tropicalis* and *Rhodotorula* *ru*, in the orange juice. Arch Latinoam Nutr 1981;31(3):463-70 in National Lib of Med (Abstract, Pubmed).
- Salvaggio J, Aukrust L. Mould induced asthma. J Allergy Clin Immunol, 1981;68:327-46.
- Mohovic J, Gambale W, Croce J. Cutaneous positivity in patients with respiratory allergies to 42 allergenic extracts of airborne fungi isolated in São Paulo, Brazil. Allergol Immunopathol, 1988; 16(6):397-402.
- Todaro F. Air-borne fungal spores as a risk factor from the operation of industry plants. Nuovi Ann Ig Microbiol 1978;29(6):443-58 in National Lib of Med (abstract, Pubmed).
- Yap JC, Wang YT, Yeo CT, Poh SC. The effect of fresh orange juice on bronchial hyperreactivity in asthmatic subjects. Singapore Med J, 1990; 31(6):583-6 in National Lib of Medicine (Abstract, Pubmed).

28. Baggio D, Bernd LA, Ambrozio LC. Storage mite allergy in perennial rhinitis patients not sensitized to house dust mites. J Investig Allergol Immunol, 1996;6(2):94-97.

Endereço para correspondência

Rodolpho José de Carvalho Pinto

Av. Fioravante Bertachini, 260 – Nova Matão

15990-000 - Matão - SP

Tel.: 0XX-16-284.1487 / 9783.6443

Fax.: 0XX-16-282.7924

E-mail: rodolphojosedecarvalhopinto@bol.com.br