

# Resistência de larvas de *Contracaecum* sp., a baixas temperaturas

## Resistance of *Contracaecum* sp. larvae under low temperature

Luciano Antunes Barros,\* Cleise Oliveira Sigarini,\*\* Paula Rodrigues Pinto\*\*\*

### Resumo

Trinta e cinco peixes da espécie *Hoplias malabaricus* provenientes do rio Cuiabá, estado de Mato Grosso, foram necropsiados para a coleta de larvas de anisquídeos, *Contracaecum* sp., com o objetivo de avaliar a resistência desses nematóides ao frio. As larvas foram coletadas e avaliadas quanto a sua viabilidade, através de movimento espontâneo e integridade morfológica; estas foram acondicionadas entre fatias da massa muscular e mantidas em freezer a -30°C, para avaliação da sobrevivência dos parasitos a cada hora. Após cinco horas de exposição, todas as larvas estavam mortas.

**Palavras-chave:** anisquídeos, *Contracaecum* sp., resistência à baixas temperaturas.

### Abstract

Thirty-five specimens of *Hoplias malabaricus* collected from Cuiabá River, Mato Grosso state, Brazil, were necropsied for collecting anisakid larvae, *Contracaecum* sp., aiming to observe the resistance of these nematode to the cold. The larvae were collected and considered about as its viability through spontaneous movement and morphologic integrity. It was kept into muscle masses -30°C, testing its survival on the hour. After five hours of exposition all the larvae were dead.

**Keywords:** anisakidae, *Contracaecum* sp., resistance to low temperature.

### Introdução

Larvas de nematóides da família Anisakidae, principalmente *Anisakis simplex*, são encontradas na serosa e musculatura de peixes e podem ser responsáveis por danos à saúde do homem, se forem acidentalmente consumidas vivas, causando uma síndrome parasitária denominada anisquiose. O risco de transmissão desta parasitose é grande quando há consumo de pratos a base de carne de pescado crua. No entanto, segundo Moreno-Ancillo et al. (1997), reações alérgicas podem ocorrer após ingestão de peixes parasitados, submetidos a cocção. Isso é explicado devido à termoestabilidade dos alergenos, ainda existentes nas larvas, que levam a sinais clínicos de urticária, angioedema, ou mesmo à anafilaxia, mesmo após a cocção do pescado.

A anisquiose foi descrita pela primeira vez pelo Dr. M. Strub em 1955 na Holanda e publicada em detalhes por Van Thiel et al. em 1960. Desde então muitos casos têm sido registrados pelo mundo, principalmente em países onde existe o hábito alimentar do consumo de pescado cru, mal cozido, defumado a frio ou inadequadamente salgado e resfriado (Chitwood et al., 1975; Dói et al. 1989; Mascaró et al., 1999; López-Serrano et al. 2000). No Brasil ainda não há

nenhum relato de anisquiose ou infecção por outros nematóides desta família em pacientes humanos, mas esse dado pode estar relacionado com a falta de conhecimento da população e da comunidade médica, o que levaria a uma dificuldade de diagnóstico, já que pode ser facilmente confundida com outras patologias do trato gastrointestinal, como por exemplo, o câncer gástrico, úlceras e apendicite.

Alguns experimentos vêm sendo realizados para um melhor entendimento da patologia ocasionada por *Contracaecum multipapillatum* em mamíferos. Infecções experimentais e análise do potencial patogênico de larvas desta espécie foram realizadas em gatos e coelhos, sugerindo provável potencial zoonótico para esta espécie de anisquídeo (Vidal-Martinez et al. 1994; Barros et al. 2004).

Rego et al. (1985) descreveram a patogenia provocada por larvas de anisquídeos em fígado de peixes (*Pagrus pagrus*) pescados no estado do Rio de Janeiro, chamando a atenção para a importância desta parasitose em Saúde Pública. Na busca por parâmetros seguros de processamento de pescado Dailey (1975) relatou que a sobrevivência de larvas de helmintos após o congelamento pode depender de variáveis como: tipo de freezer empregado, tipo de amostra, nível de congelamento e tipo de larva. Apesar de Chitwood

\* Prof. adjunto da disciplina Parasitologia Geral Aplicada à Medicina Veterinária – Departamento de Produção Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: labarros@terra.com.br

\*\* Prof. substituta da disciplina Inspeção de Produtos de Origem Animal – Departamento de Produção Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: cleisesigarini@ibest.com.br

\*\*\* Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: paulla\_rp@hotmail.com

(1970), Deardorff et al. (1987) afirmarem que a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  por 24 horas é suficiente para inviabilizar as larvas de anisakiídeos, Meyers (1976), Jackson e Bier (1981) recomendam o congelamento de pescado a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 60 horas e Gustafson (1953) realizou um estudo em *Sebastes* sp., pescados no litoral leste dos Estados Unidos da América e observou que, quando estes eram submetidos à temperatura inicial de  $-30^{\circ}\text{C}$  por 16 horas, seguida de estocagem a  $-12^{\circ}\text{C}$ , ocasionava a morte de todas as larvas de *Contracaecum* sp. nas primeiras 24 horas. A FDA (1998) recomenda o congelamento de pescado a pelo menos  $-20^{\circ}\text{C}$ , por período mínimo de 7 dias ou a  $-35^{\circ}\text{C}$  por período mínimo de 15 horas, para *Diphyllbothrium latum* e *Anisakis simplex*.

No presente estudo foram utilizados peixes da espécie *Hoplias malabaricus* devido ao seu hábito alimentar carnívoro, o que facilita a sua participação no ciclo biológico, por recrutar larvas de *Contracaecum* sp. existentes em outras espécies de peixes e também por serem de importância econômica, uma vez que são utilizados pela população como alimento. Este trabalho tem por objetivo avaliar a sensibilidade específica de larvas de *Contracaecum* sp., a temperaturas de congelamento ( $-30^{\circ}\text{C}$ ) e armazenamento ( $-18^{\circ}\text{C}$ ).

## Material e métodos

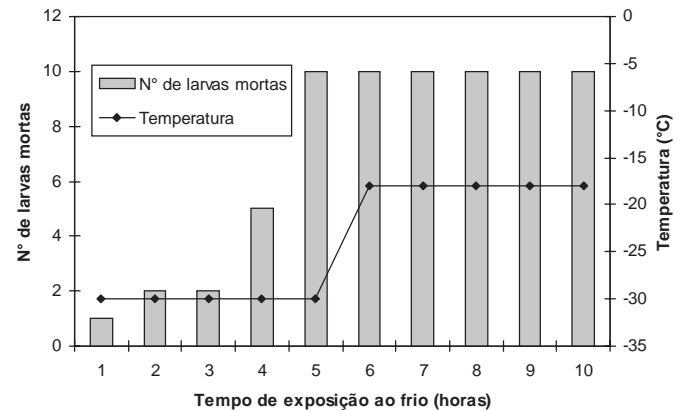
Durante o mês de outubro de 2006 foram coletados cinquenta e cinco espécimes de traíras, *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794), provenientes do rio Cuiabá, município de Santo Antônio do Leverger, estado de Mato Grosso, para coleta de larvas de *Contracaecum* sp. Os espécimes de traíras foram transportados em caixa de isopor com gelo para o Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Mato Grosso, onde foram necropsiadas imediatamente após o recebimento.

As larvas foram coletadas na cavidade celomática, musculatura esquelética e bexiga natatória, e posteriormente mantidas em solução salina (0,65% NaCl) para serem identificadas e avaliadas quanto à sua viabilidade através de movimento espontâneo e integridade morfológica. As larvas mortas foram descartadas. A musculatura foi seccionada em fatias (filés) de 75 gramas, que serviram para acomodação de larvas durante o processo de congelamento. As larvas foram acomodadas entre duas fatias, totalizando 150 gramas de musculatura de pescado, reproduzindo assim a condição de localização muscular observada naturalmente. Foram utilizadas cem larvas, distribuídas em dez conjuntos de musculatura, com dez larvas cada, que foram acomodados em sacos plásticos e acondicionados em um freezer (Electrolux® freezer/cooler H300) com temperatura interna de  $-30^{\circ}\text{C}$ , utilizada como temperatura de congelamento. Após o congelamento das peças de musculatura, a temperatura foi aumentada para  $-18^{\circ}\text{C}$ , como temperatura de armazenamento. A viabilidade das larvas foi avaliada nos 10 conjuntos de musculatura a cada hora, utilizando-se como parâmetro a motilidade, através da observação do movimento espontâneo ou por estímulo mecânico.

## Resultados

O efeito da temperatura de congelamento a  $-30^{\circ}\text{C}$  demonstrou que na primeira hora de exposição, 90% das larvas

continuavam vivas, ao final da segunda e terceira horas a sobrevivência foi de 80%, na quarta hora 50% encontravam-se vivas e ao final de cinco horas de exposição, quando a temperatura foi elevada para  $-18^{\circ}\text{C}$ , temperatura de armazenamento, todas as larvas já se encontravam mortas. Em todos os exames posteriores a cinco horas não foram encontradas larvas vivas. Estes dados podem ser melhor avaliados na Figura 1.



**Figura 1:** Diagrama linear demonstrativo da mortalidade das larvas de *Contracaecum* sp., acomodadas em fatias de 150 gramas de musculatura esquelética de *Hoplias malabaricus*, em relação ao tempo de exposição ao frio

## Discussão

A ANVISA (2005), a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e o MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com referências da FDA – Food and Drug Administration (1998), recomendam que pratos preparados com peixe cru ou mal-cozido, devem ser precedidos de congelamento, em pelo menos  $-20^{\circ}\text{C}$  (menos vinte graus centígrados) por um período mínimo de 7 dias, ou menos  $-35^{\circ}\text{C}$  (menos trinta e cinco graus centígrados) por um período de, no mínimo, 15 horas. Estas são condições preconizadas para casos de parasitismo por *Diphyllbothrium latum* e *Anisakis simplex*, espécies diferentes de *Contracaecum* sp., podendo assim justificar-se a diferença quanto ao tempo de resistência às temperaturas testadas e contribuir com a atualização dos dados já existentes.

Os resultados apresentados neste trabalho são compatíveis com aqueles obtidos por São Clemente et al. (1994). No entanto, a metodologia adotada por estes autores, utilizando peixes inteiros submetidos a baixas temperaturas, não permite que se tenha certeza de que todas as larvas estavam vivas no início do experimento.

Resultados obtidos por Deardorff e Throm (1988) comprovam a morte de larvas de *Anisakis* à temperatura de  $-35^{\circ}\text{C}$  pelo período de uma hora, período este inferior ao obtido neste experimento; no entanto, isso pode se justificar pela diferença na metodologia utilizada (Blast-freezing – Supercongelamento) e pela diferença entre as espécies de parasitos testadas.

Resultados de morte de larvas quando submetidas à temperatura de congelamento, obtendo-se tempo de morte superior a cinco horas, foram apresentados por Gustafson

(1953), Bier (1976) e Marques et al. (1995). Esses resultados são diferentes dos apresentados nesse trabalho e isso pode ser justificado, conforme já relatado por Dailey (1975) citado por Marques et al. (1995), com base na espécie dos parasitos utilizados. Neste trabalho foram utilizadas larvas de *Contracaecum* sp., enquanto nos casos anteriores, os autores não mencionam a espécie de parasito testado, apenas referidos como anisakiídeos.

## Referências

- ANVISA. Anvisa alerta sobre o consumo de peixe cru: alerta e recomendações referentes a casos de Difilobotríase no município de São Paulo. Brasília, 6 de abril de 2005 – 16h30. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/informes/2005/060405.htm>>. Acesso em: 09 Maio 2006.
- BARROS, L.A.; TORTELLY, R.; PINTO, R.M.; GOMES, D.C. Effects of Experimental infections with larvae of *Eustrongylides ignotus* and *Contracaecum multipapilatum* in rabbits. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 56, p. 325-332, 2004.
- BIER, J.W. Experimental anisakiasis: cultivation and temperature tolerance determinations. *J. Milk Food Technol.* v. 39, n. 2, p. 132-137, Feb, 1976.
- CHITWOOD, M. Nematodes of medical significance found in marked fish. *J. Trop. Med Hyg.*, v. 19, n. 4, p. 595-602, 1970.
- CHITWOOD, M. *Phocanema*-type larval nematode coughed up by a boy in California. *Am J. Trop. Med. Hyg.* v. 24, p. 710-711, 1975.
- DAILEY, M.D. Investigations on the viability of larval helminths after freezing. *J. Aquatic mammals*, v. 3, p. 22-25, 1975.
- DEARDORFF, T.L.; ALTMAN, J.; NOLAN, C.M. Human anisakiasis: two cases reports from the State of Washington. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, v. 54, n. 2, p. 274-275, 1987.
- DEARDORFF, T.L.; THROM, R. Commercial blast-freezing of third-stage *Anisakis simplex* larvae encapsulated in salmon and rockfish. *J. Parasit.*, v. 74, n. 4, p. 600-603, 1988.
- DÓI, R. et al. A case of anisakiases as a cause of ileum obstruction. *Dig Surg.* v. 6, p. 218-220, 1989.
- FDA (Food and Drug Administration) Fish & Fisheries Products Hazards & Controls Guide. 2nd ed. Washington, D.C.: FDA, Office of Seafood. 1998, 276 p.
- GUSTAFSON, P.V. The effect of freezing on encysted *Anisakis* larvae. *J. Parasit.* v. 39, p. 585-588, 1953.

## Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$  por cinco horas é suficiente para matar as larvas de *Contracaecum* sp., sendo este dado importante na busca de métodos seguros e na determinação de parâmetros tecnológicos, prevenindo riscos de transmissão desta parasitose à saúde pública.

- JACKSON, G.J.; BIER, J.W. Review of human anisakiasis. *FDA By-Lines*, n. 3, p.152-156, Jul, 1981.
- LÓPEZ-SERRANO, M.C.; ALONSO GOMEZ, A.; DASCHNER A. et al. Gastroallergic anisakiasis: Findings in 22 patients. *J. Gastroent. Hepatol.*, v. 15, p. 503-506, 2000.
- MARQUES, M.C.; CLEMENTE, S.C.; BAROS, H.C. et al. Utilização do frio (resfriamento e congelamento) na sobrevivência de larvas de nematóides anisakiídeos em *Trichiurus lepturus*. *Higiene alimentar*, v. 9, n. 39, p. 23-28, 1995.
- ROSALES, M.J.; MASCARÓ, C.; FERNANDEZ, C. et al. Acute intestinal anisakiasis in Spain: a fourth-stage *Anisakis simplex* larva. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 94, n. 6, p. 823-826, 1999.
- MEYERS, B.J. Research then and now on the Anisakidae nematodes. *Trans. Of the Am. Mic. Soc.*, v. 98, n. 2, p. 137-142, 1976.
- MORENO-ANCILLO, A.; CABALLERO, M.T.; CABANÁS, R. et al. Allergic reactions to *Anisakis simplex* parasitizing sea food. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, v. 79, p.246-250, 1997.
- PEREIRA, A.D. et al. Incidência de parasitos da família anisakidae em bacalhau (*Gadus morhua*) comercializado no estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 59, p. 45-49, 2000.
- REGO, A.A.; CARVAJAL, J.; SCHAERRER, G. Patogenia del hígado de peces (*Pagrus pagrus*) (L) provocada por larvas de nematodos anisakidae. *Parasitol. Al día*, v. 9, p. 75-79, 1985.
- SÃO CLEMENTE, S.C.; UCHOA, C.M.A.; FREIRE, N.M.S. Larvas de anisakiídeos em *Pagrus pagrus* e seu controle através de baixas temperaturas. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v. 1, n. 1, p. 21-24, 1994.
- VAN THIEL, P.H.; HUIPPERS, C.F.; ROSKAM, R.T. A Nematode Parasitic to herring causing Acute Abdominal Syndromes in Man. *Trop. Grog. Med.*, v. 2, p. 97-113, 1960.
- VIDAL-MARTINEZ, M.; OSORIO-SARABIA, D.; OVERSTREET, R.M. Experimental infection of *Contracaecum multipapilatum* (Nematoda: Anisakinae) from Mexico in the domestic cat. *J. Parasitol.* v. 80, n. 4, p. 576-579, 1994.