

Larvas de anisakídeos em *Pagrus pagrus* (L.) e seu controle através de baixas temperaturas*

(Anisakids larvae in *Pagrus pagrus* (L.) and its control under low temperature)

SÃO CLEMENTE, Sérgio Carmona de**, UCHOA, Claudia Maria Antunes*** e SERRA FREIRE, Nicolau Maués da****

Resumo

Em 100 exemplares de *Pagrus pagrus* examinados, pescados no litoral dos Estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, Brasil, 88% achavam-se parasitados por larvas de anisakídeos. Nos 16 primeiros peixes necropsiados para evidenciação do parasitismo, observou-se que 100% estavam parasitados pelo gênero *Contracaecum*, 65% pelo gênero *Raphidascaris*, 44% pelo gênero *Phocanema* e 44% pelo gênero *Terranova*. Cinquenta e um peixes foram mantidos à temperatura de refrigeração (0°C) por 120 horas. Ao final deste tempo 68,37% dos parasitos morreram. Trinta e três peixes foram colocados à temperatura de -15°C. Após duas horas de exposição à temperatura de -2,9°C todas as larvas coletadas encontravam-se mortas. A localização dos parasitos estava restrita às serosas das vísceras e serosas abdominais.

Palavras-chave: Anisakídeos, *Pagrus pagrus*, Baixas temperaturas.

Introdução

No Brasil a maioria dos trabalhos existentes sobre nematóides da família Anisakidae, se refere somente sobre a ocorrência destes helmintos em pescado.

Amato e Amato (1982) descrevem o encontro de larvas de *Sulcascaris sulcata* parasitando moluscos do gênero *Pecten* (*Euvola*) *ziczac*.

Rego *et al.* (1985) descrevem a patogenia provocada por larvas de anisakídeos em fígado de Pargos (*Pagrus pagrus*) pescados no litoral do Rio de Janeiro, chamando a atenção para a importância em Saúde Pública, devido a presença destes parasitos nessa espécie de peixe.

Barros (1988) descreve o encontro de larvas do gênero *Anisakis* e *Contracaecum* em peixes-espada (*Trichiurus lepturus*) pescados na costa do Rio de Janeiro.

Até a presente data, não se tem conhecimento, no Brasil, de estudos sobre o controle destes parasitos nos pei-

xes através da utilização do frio ou de outras tecnologias. Várias espécies de peixes pescados em nosso litoral são, no entanto, hospedeiros de larvas de anisakídeos, entre elas o Pargo (*Pagrus pagrus*), o objeto desta pesquisa.

Um dos trabalhos mais importantes sobre *Anisakis* e Anisakiasis foi realizado por Smith e Wooten (1978) onde os autores dão ênfase à vários tipos de controle utilizados na tentativa de inviabilizar larvas do gênero *Anisakis* em peixes e chamam atenção para a resistência deste gênero comparado com outros gêneros da família Anisakidae.

Gustafson (1953) realizou um experimento utilizando vários tempos e temperaturas de congelamento em *Sebastes* *sp.*, pescados no litoral leste dos Estados Unidos, com a finalidade de inviabilizar larvas de nematóides anisakídeos.

Hauck (1977) utilizou 220 arenques (*Clupea harengus pallari*) pescados no litoral do Estado de Oregon, USA, e dividiu-os em 5 grupos para testar o efeito de vários métodos de manipulação e processamento, como: peixe fresco, congelado, salgado, defumado a frio e defumado a quente, na sobrevivência de larvas de *Anisakis*; Myers (1978) recomenda o congelamento a -20°C em filés de pescado, para matar larvas de anisakídeos; Bier (1976) relata que espécies de peixes pescados no litoral norte-americano resistiram por 52 horas ao congelamento a -20°C; Deardorff *et al.* (1984) demonstraram que ciobas (*Lutjanus analis*) parasitados com larvas de anisakídeos foram congelados a -20° por 24 horas e *Sebastes* *sp.* congelados -20° por 120 horas. Estas temperaturas e tempos foram necessários para inativar os nematóides.

Com o intuito de contribuir com o Serviço de Inspeção Federal, com o consumidor e com as firmas exportadoras de pescado, objetivou-se estudar os gêneros que compõem a infrapopulação destes nematóides em *P. pagrus* e a utilização do frio na inviabilização deste grupo de helmintos.

* Trabalho realizado sob os auspícios do CNPq

** Universidade Federal Fluminense - Faculdade de Veterinária - Deptº Tecnol. Alimentos, Niterói - CEP: 24230-340

*** Bolsista iniciação científica - CNPq

**** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia - Depto. Parasitol. Animal Seropédica - Itaguaí, RJ, CEP: 23851-970

Material e Métodos

Foram realizadas 100 necrópsias de *Pagrus pagrus*, pescados no litoral do Estado do Rio de Janeiro e Espírito Santo por pescadores profissionais. Estes peixes foram obtidos através do Serviço de Inspeção Federal sediado no Aeroporto do Galeão, Rio de Janeiro e através da Brasfish Ltda, sediada no município de Cabo Frio-RJ. Os peixes foram transportados em caixas de isopor com gelo até o Laboratório de Higiene e Tecnologia de Pescado, da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal Fluminense.

Os peixes foram medidos e eviscerados. Com a cavidade aberta, fêz-se o exame e procedeu-se a contagem das larvas que se encontraram nas serosas da cavidade abdominal e/ou encistadas em órgão ou em suas serosas. Em seguida, foram retirados os filés, para verificar a existência de nematóides na musculatura. Após este primeiro exame, os filés foram dissecados, para exame de toda a massa muscular.

Os 16 primeiros exemplares foram necropsiados, objetivando-se detectar a existência ou não de nematóides da família Anisakidae. Os nematóides coletados foram colocados em pequenos frascos contendo solução fisiológica e lavados sob agitação e fixados pelo A.F.A. (Alcool Etílico 70% - Formalina 40% - Ácido Acético Glacial) à quente (60°C). Em seguida, foram colocados em álcool 70% glicerinado a 10%, sendo posteriormente clarificados pelo lactofenol de Amann e montados em creosoto para estudo e alguns espécimes, quando necessário, montados definitivamente em Bálamo do Canadá.

Os demais peixes foram submetidos a diferentes temperaturas para testar a resistência dos nematóides ao frio e posteriormente necropsiados. Inicialmente esta resistência foi avaliada à temperatura de peixe refrigerado (0°C) durante 5 dias. Foram utilizados 51 peixes, divididos em 5 lotes. A cada 24 horas um lote era necropsiado, os nematóides vivos eram fixados, clarificados e montados para posterior identificação até atingir 120 horas. Para testar a resistência dos nematóides à temperatura de congelamento (-18°C) foram utilizados 33 peixes. A cada 1 hora, 4 peixes eram necropsiados até atingir 5 horas. 13 peixes foram mantidos em freezer até a temperatura da massa muscular atingir -15°C e posteriormente necropsiados. Para avaliação das temperaturas nas musculaturas dos peixes foi utilizado um termômetro digital.

Resultados

Em um total de 100 pargos (*Pagrus pagrus*) examinados, 88% achavam-se parasitados por larvas de nematóides da família Anisakidae. Os parasitos encontrados pertenciam aos gêneros: *Contraecaecum*, *Terranova*, *Raphidascaris* e *Phocanema*.

As localizações dos anisakídeos na espécie de peixe pesquisada estavam restritas às serosas da cavidade abdominal e das vísceras. Para evidência do parasitismo foram inicialmente necropsiados 16 peixes, onde observou-se que 100% estavam parasitados. A frequência do parasitismo destaca que o gênero prevalente era

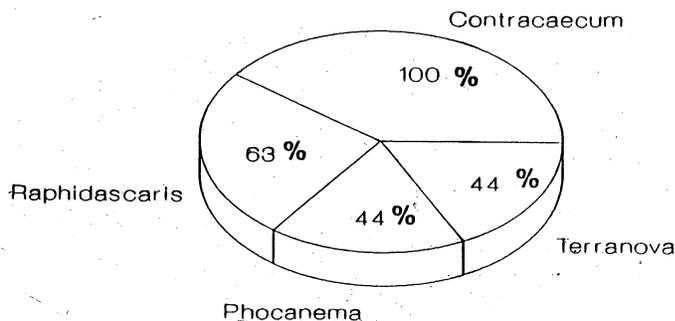


Fig. 1 - Prevalência do estágio larval de Anisakídeos encontrados em *Pagrus pagrus*.

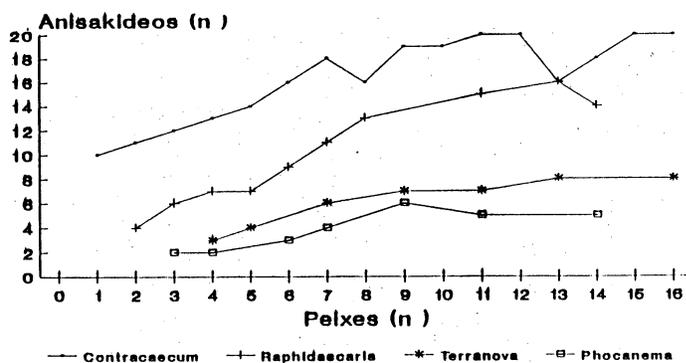


Fig. 2 - Frequência acumulada da intensidade do parasitismo por larvas de Anisakídeos.

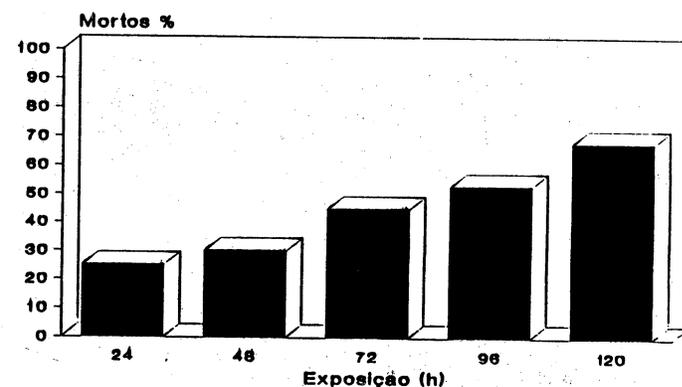


Fig. 3 - Percentual de Anisakídeos mortos em *P. pagrus* parasitados em função do tempo de exposição à temperatura de 0°C.

Contraecaecum sp (Fig. 1) A frequência acumulada para os 16 peixes utilizados para evidência do parasitismo reforça que o gênero *Contraecaecum sp* foi o prevalente por peixe como pode ser observado na Fig. 2.

O efeito da temperatura de refrigeração (0°C) por até 120 horas sobre a massa muscular dos peixes demonstrou que houve 68,33% de mortalidade das larvas de anisakídeos, ao final deste período, (Fig. 3). Nos 33 peixes submetidos ao congelamento à temperatura de -15°C, avaliou-se vários tempos de exposição quanto a sobrevivência das larvas de anisakídeos. A partir de 2,9°C durante 2 horas de exposição todas as larvas de anisakídeos coletadas estavam mortas (Fig. 4). Nos 13 peixes mantidos à temperatura de -18°C e

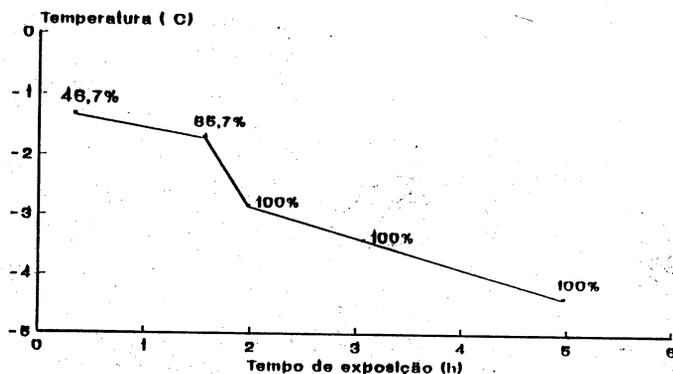


Fig. 4 - Relação entre tempo e temperatura de congelamento de *P. pagrus* e o efeito na mortalidade de larvas de Anisakídeos.

necropsiados após a sua musculatura atingir -15°C também todos os parasitos encontraram-se mortos. Não foi observada migração dos parasitos para a musculatura quando os peixes foram submetidos à ação do frio. Os parasitos encontrados vivos nos peixes submetidos à temperatura de refrigeração pertenciam ao gênero *Contracaecum* sp.

Discussão

No Brasil, não existe até o momento pesquisas relacionadas com a utilização do frio ou de outros métodos de conservação do pescado quanto a inviabilização de larvas de parasitos em peixes. Entretanto os resultados obtidos podem ser comparados aos de outros pesquisadores que utilizaram, diferentes espécies de peixes.

No experimento realizado, o efeito da temperatura de 0°C sobre a massa muscular de *P. pagrus* demonstrou que, por 120 horas 68,33% das larvas se mostraram inviáveis e quando estocados à -18°C , em 2 horas a temperatura da massa muscular atingiu $-2,9^{\circ}\text{C}$, quando todos os parasitos apresentaram-se mortos. Deardorff *et al.* (1984) pesquisaram peixes do gênero *Lutjanus* e *Sebastes* parasitados com larvas de anisakídeos dos gêneros *Terranova* e *Anisakis* estocados em temperatura de 0°C , -5°C , -10°C e -20°C e relatam que, a morte das larvas de *Terranova* ocorreu em 4 dias para os peixes estocados a -5°C , em 1 dia, quando estocados a -10°C , -15°C , -20°C . Os peixes estocados a 0°C em 6 dias, 75% das larvas permaneceram vivas, portanto, resultado divergente daqueles obtidos nesse experimento. Com relação às temperaturas de congelamento os resultados também divergiram.

A resistência ao frio do gênero *Anisakis* foi descrita por Gustafson (1953) em peixes do gênero *Sebastes*, quando os mesmos foram embalados em papel alumínio e mantidos à temperatura de -5°C por 2 horas, neste estágio do tratamento, permanecendo 77% das larvas vivas, em 20 horas de exposição, 35% encontravam-se viáveis. Bier (1976) relata que larvas de anisakídeos coletadas de peixes do litoral norte americano resistiram por 52 horas à temperatura -20°C . Hauck (1977) registra que, larvas de *Anisakis* parasitando *Clupea harengus* não resistiram a uma tempe-

ratura de -20°C por 2 horas. Os resultados citados no presente trabalho demonstram que, nenhum gênero testado à temperatura de congelamento resistiu por mais de duas horas à temperatura de $-2,9^{\circ}\text{C}$.

Segundo Smith e Wootten (1978) a resistência das larvas de anisakídeos testada em diferentes tipos de conservação e/ou processamento, podem estar relacionadas com as metodologias utilizadas, os tamanhos dos peixes e as localizações dos parasitos nos mesmos.

Autores como Van Thiel *et al.* (1960), Priebe *et al.*, (1973), Smith e Wootten (1978), Hauck (1977) e Deardorff *et al.* (1984) descrevem que larvas de anisakídeos podem migrar para a musculatura quando expostas a diferentes métodos de conservação. Entretanto, Khalil (1969); e Carvajal *et al.* (1979) reportam que, a baixa temperatura não interfere na migração de larvas de anisakídeos das serosas viscerais para a musculatura. O frio também não interferiu na localização dos nematóides encontrados em utilizados neste trabalho.

Summary

Anisakids larvae in *Pagrus pagrus* (L.) and its control under low temperature

A sample of 100 *Pagrus pagrus* caught in the coast of Rio de Janeiro and Espírito Santo States, Brazil, was examined and larval stages of anisakid nematode were observed affecting 88% of the sample. Post-mortem examinations were carried out in the first 16 fish in order to identify the genera of the parasites and it was noted that 100% belonged to the genus *Contracaecum*, 63% of the genus *Raphidascaris*, 44% to the genus *Phocanema* and 44% to the genus *Terranova*. Among 51 fish which were maintained at 0°C for 120 hours it was observed that 68,37% was dead at the end of this time. Thirty-three fish were kept at -15°C and after two hours at $-2,9^{\circ}\text{C}$ all previously noted larva were dead. All the parasites were found in the visceral and abdominal serosa.

Key words: Anisakids, *Pagrus pagrus*, low temperature

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos aos Doutores Geraldo Abreu de Oliveira e Henrique Silva Pardi, médicos veterinários do Serviço de Inspeção Federal e à firma exportadora de pescado BRASFISH, pelo fornecimento dos peixes utilizados neste trabalho.

Referências Bibliográficas

- AMATO, J.R.F.; AMATO, S.B. *Sulcascaris sulcata* (Nematoda, Anisakinae). Infecting Sea Scallops Being Exported from Southeastern Brasil. *Arq. Univ. Fed. Rur.*, Itaguaí, RJ. v. 5, n. 1, p. 61-67, 1982.
- BARROS, G.C. Larvas de Anisakídeos do peixe-espada, *Trichiurus lepturus* L., da Costa do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1988. 100 p. Tese de Doutorado, em Parasitologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- BIER, J.W. Experimental Aniskiasis: Cultivation and temperature tolerance determinations. *J. Milk Food Technol.* v. 39, p. 132-137, 1976.
- CARVAJAL, J.; CATTAN, P.; CASTILLO, C.; SSHATTE, P. Larval Anisakids and other helminths in the Hake *Merluccius gayi* (Guichenot) from Chile. *J. Fish Biol.* v. 15, p. 671-677, 1979.

- DEARDOFF, T.L.; RAYBOURNE, R.B.; DESOWITZ, S. Behavior and Viability of Thirt-Stage Larvae of *Terranova* sp (Type HA) and *Anisakis simplex* (Type I) under Coolant Conditions. *J. of Food Protec.* v. 47, n. 1, p. 49-52, 1984.
- GUSTAFSON, P.V. The effect of Freezing on Encysted *Anisakis* Larvae. *J. of Parasitol.* v. 39, p. 585-588, 1953.
- HAUCK, A.K. Ocurrence and Survival of the Larval nematode *Anisakis* sp. in the Flesh of Fresh, Frozen, Brined, and Smoked Pacific Herring, *Clupea harengus*. *J. of Parasitol.*, v. 63, n. 3, p. 515-519, 1977.
- KHALIL, L.F. Larval Nematodes in the Herring (*Clupea harengus*) from British Coastal Waters and Adjacens Territories., *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, v. 49, p. 641-659, 1969.
- MEYERS, R.T. Prevalence of Fish Parasitism in Raritan bay, New Jersey. *Proc. of the Helminthol. Soc. of Wash.*, v. 45, n. 1, p. 120-128, 1978.
- PRIEBE K., JENBRUSCH H. HAUSTEBT V. Problematik und esperimentaluntersuchungen zum erloschen der einbohrpotenz von *Anisakis* larven des herings bei der hertellung von kalmarinaden. *Arch. Lebensmittelhyg.* v. 24, n. 9, p. 217-222, 1973.
- REGO A.A.; CARVAJAL J.; SCHAERRER G. Patogenia del higado de peces (*Pagrus pagrus*) (L.) provocada por Larvas de Nematodos Anisakidae, *Parasitol al Dia*. v. 9, p. 75-79, 1985.
- SMITH J.W.; WOOTEN R. *Anisakis* & Anisakiasis. *Adv. in Parasitol.* v. 16, p. 93-163, 1978.
- VAN THIEL, PH.; KUIPERS C.F.; ROSKAN, T.H. A Nematode Parasitic to Herring Causing. Acute abdominal syndromes in man., *Tropic. Georg. Med.* v. 12, p. 97-113, 1960.