

## ANGIOSTRONGILOSE ABDOMINAL: PROFILAXIA PELA DESTRUIÇÃO DAS LARVAS INFECTANTES EM ALIMENTOS TRATADOS COM SAL, VINAGRE OU HIPOCLORITO DE SÓDIO

Graziela Maria Zanini e Carlos Graeff-Teixeira

A infecção acidental humana pelo *Angiostrongylus costaricensis* ocorre com elevada prevalência em certas áreas do Brasil meridional, eventualmente se manifestando como doença abdominal severa. Profilaxia é importante, pois não há tratamento medicamentoso. Um dos modos de transmissão é a ingestão de frutas e vegetais contaminados com a mucosidade de moluscos infectados, os hospedeiros intermediários deste parasita. Larvas de terceiro estágio obtidas do ciclo mantido em laboratório foram incubadas a 5°C por 12 horas, em vinagre, solução saturada de cloreto de sódio e hipoclorito de sódio a 1,5%. A viabilidade das larvas tratadas foi testada através da inoculação em camundongos albinos. Os percentuais de larvas que estabeleceram infecção foram: 0% com hipoclorito de sódio, 1,8% com salmora e 2,4% com vinagre. Em conclusão, todas as substâncias - de baixo custo e disponíveis nas áreas endêmicas - reduziram a população de larvas viáveis e podem ser úteis na descontaminação de alimentos para profilaxia da angiostrongilose abdominal.

*Palavras-chaves:* Angiostrongilose abdominal. Contaminação alimentar. Zoonoses por helmintos.

A angiostrongilose abdominal é uma infecção causada pelo *Angiostrongylus costaricensis*, parasita habitual de roedores silvestres, tais como o *Sigmodon hispidus* na América Central e *Oryzomys nigripes* no sul do Brasil<sup>1, 4</sup>. O homem pode ser hospedeiro acidental ao ingerir alimentos contaminados com larvas de terceiro estágio (L3), eliminadas com a mucosidade de moluscos terrestres, hospedeiros intermediários deste parasita<sup>4</sup>.

No Brasil, a maioria dos diagnósticos vem de estados sulinos, especialmente, do Rio Grande do Sul<sup>2</sup> e resultados de dois inquéritos soroepidemiológicos indicam que a infecção pelo *A. costaricensis* é muito comum. (C. Graeff-Teixeira: dados não publicados). Nas áreas endêmicas do Rio Grande do Sul há informações sugerindo a existência de grande número de casos que evoluem espontaneamente para cura e que ficam sem

diagnóstico. Isto porque os casos complicados por obstrução e/ou perfuração intestinal são relativamente raros e os únicos em que se faz diagnóstico parasitológico, através do exame anátomo-patológico<sup>3</sup>.

O tratamento anti-helmíntico é contra-indicado, pois o parasita localiza-se no interior de ramos da artéria mesentérica e a sua morte agrava as lesões, podendo levar a quadros de trombose arterial aguda<sup>6</sup>. Nesta situação, o estabelecimento de medidas profiláticas da angiostrongilose abdominal é de grande importância. Morera, em 1980, apresentou dados indicando a possível eficácia do resfriamento de verduras como profilaxia<sup>5</sup>.

O objetivo deste trabalho é avaliar substâncias de uso comum pela população, como inibidoras da viabilidade de larvas L3 de *A. costaricensis*.

### MATERIAL E MÉTODOS

A cepa Santa Rosa do *A. costaricensis* vem sendo mantida em laboratório, através de passagens por camundongos albinos e lesmas coletadas na natureza: *Phyllocaulis soleiformis*. As larvas foram obtidas pela digestão artificial dos moluscos<sup>7</sup> e um lote foi imediatamente inoculado, 16 larvas por animal, em

Laboratório de Parasitologia, Departamento de Ciências Microbiológicas e Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia. Instituto de Biotecnologia/Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

Apoio financeiro: bolsas CNPq 500893-92-6 e CAPES.

Endereço para correspondência: Dr. Carlos Graeff-Teixeira. Av. Ipiranga 6681, 90619-900 Porto Alegre, RS.

Recebido para publicação em 10/02/95.

camundongos para teste de viabilidade (Grupo 1 = controle 1). As demais larvas foram incubadas a 5°C por um período de 12 horas, em água destilada (controle 2), vinagre de vinho tinto (Vega, Pelotas, RS), solução saturada de sal de cozinha iodado (Cisne, Cabo Frio, RJ) e solução de hipoclorito de sódio a 1,5% (v/v; 15ml em 1000ml de água destilada) (água sanitária Clorissol lote E 3/4, Clorosul S/A, Porto Alegre, RS).

Após a incubação, 16 larvas por animal foram inoculadas via oral em 4 grupos de 12 camundongos: Grupo 2: controle 2; Grupo 3: NaCl; Grupo 4: vinagre; Grupo 5: hipoclorito de sódio. Entre o 30º e 35º dias de infecção, os camundongos foram sacrificados para exame dos ramos arteriais mesentéricos com contagem das formas adultas ao microscópio estereoscópico e observação macroscópica das lesões existentes.

O teste de cada substância foi repetido três vezes. O número total de animais em cada Grupo (Tabela 1) variou devido: 1) a limitação do número de camundongos disponíveis para os experimentos, o que levou à redução do número de animais no Grupo 1, de 12 para 6; 2) na segunda repetição, não havia número suficiente de larvas para construir todos os grupos, tendo sido feito um experimento isolado testando vinagre, com os controles 1 e 2.

## RESULTADOS

A média dos resultados de três repetições, para cada substância testada, está expressa nas Tabelas 1 e 2. A mortalidade variou de 16 a 50% nos grupos controles e esteve sempre abaixo de 16% nos grupos tratados (Tabela 1).

Para expressar a eficácia larvicida, em cada Grupo, considerou-se o número de vermes adultos em relação ao número de larvas inoculadas, como "percentagem de larvas que produziu infecção". Também, foi analisada ocorrência de animais livres de infecção (Tabela 2).

À necrópsia dos animais infectados (Tabela 3) foram observados espessamento e dilatação dos ramos arteriais mesentéricos; no mesentério: opacidades e aderências; na parede intestinal: lesões hemorrágicas, áreas de congestão e necrose, espessamento e micronodulações de cor branca além de aumento de tamanho dos linfonodos na raiz do mesentério. Muitos animais apresentaram severas lesões hepáticas e, eventualmente, também no baço. O número e intensidade das lesões foram maiores nos grupos controles. Em um dos animais inoculados com larvas, tratadas com hipoclorito de sódio, foi observado apenas discreto espessamento do tronco principal da artéria, sem ter sido encontrado verme.

Tabela 1. Mortalidade de camundongos inoculados com larvas L3 de *A. costaricensis*, incubadas por 12 horas com: água destilada (controle 2), solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), vinagre e solução 1,5% de hipoclorito de sódio (NaHClO<sub>2</sub>). Larvas recém isoladas, não-incubadas, constituem o Controle 1.

Grupos	Número de animais examinados	Mortalidade (%)		
		valores extremos	média	dp*
Controle 1	20/30	16,0 - 50	33,1	13,8
Controle 2	33/48	16,6 - 41,6	31,2	12,4
(NaCl)s	33/36	0 - 16,6	8,3	8,3
Vinagre	35/36	0 - 8,3	2,7	4,7
NaHClO <sub>2</sub>	36/36	0 - 0	0	0,0

\* (dp) = desvio padrão

Tabela 2 - Resultados do teste de viabilidade das larvas L3 de *A. costaricensis* inoculadas em camundongos, previamente tratadas com água destilada (Controle 2), cloreto de sódio (NaCl), vinagre e hipoclorito de sódio (NaHClO<sub>2</sub>) a 1,5%. São apresentados os percentuais de animais livres de infecção e de larvas que evoluíram a vermes adultos. Larvas recém-isoladas e não tratadas constituem o Controle 1.

Grupos	larvas recuperadas como vermes adultos (%)			Animais não-infectados (%)		
	valores extremos	média	dp	valores extremos	média	dp
Controle 1	22,9 - 98,4	51,9	32,4	0 - 0	0	0
Controle 2	22,1 - 34,8	26,2	5,8	0 - 3	2	4,1
(NaCl)s	0 - 5,6	1,8	3,2	60 - 100	86,6	23
Vinagre	0 - 5,2	2,4	2,6	50 - 100	74,2	25
NaHClO <sub>2</sub>	0 - 0	0	0	100 - 100	100	0

\* (dp) = desvio padrão

Tabela 3 - Lesões macroscópicas do intestino observadas nos animais infectados com as larvas tratadas com água destilada (Controle 2), cloreto de sódio (NaCl), vinagre e solução de hipoclorito de sódio (NaHClO<sub>3</sub>). Larvas recém-isoladas e não-tratadas constituem o Controle 1.

Local	Controle 1	Controle 2	(NaCl)s	Vinagre	NaHClO <sub>3</sub>
Pontilhado branco	17/20	29/33	3/33	6/35	0/36
Pontilhado hemorrágico	12/20	27/33	3/33	5/35	0/36
Área congesta ou com necrose	1/20	0/33	0/33	0/35	0/36
Espessamento arterial	19/20	28/33	3/33	8/35	1/36
Aumento dos linfonodos	10/20	14/33	3/33	7/35	0/36
Espessamento da parede	13/20	26/33	2/33	5/35	1/36
Opacidades do mesentério	9/20	10/33	4/33	5/35	0/36
Aderências	6/20	3/33	1/33	0/35	0/36

## DISCUSSÃO

Supõe-se que a angiostrongilose abdominal possa ser transmitida ao homem de quatro maneiras: 1) pela ingestão de alimentos contaminados com muco contendo a larva de terceiro estágio; 2) por contágio direto, quando da manipulação de moluscos infectados; 3) pela ingestão do próprio molusco; 4) pela água. Não há estudos detalhados investigando a ocorrência e importância destes supostos modos de infecção. A água pode conter as larvas L3 e se isto ocorrer na natureza, os estudos epidemiológicos teriam que dirigir atenção a moluscos aquáticos como vetores e a filtragem ou fervura da água seria recomendável. A ingestão do molusco pode dar-se de modo acidental, como em crianças pequenas ou diminutos moluscos em meio a verdura, ou proposital, como parte da culinária. A manipulação de moluscos ocorre tipicamente entre pescadores amadores, na região norte do Rio Grande do Sul, que os utilizam como iscas. Muitas crianças na área rural brincam com moluscos vivos, como o *Megalobulimus sp.* Seria importante dispor de reagentes larvicidas no preparo das verduras e frutas que são consumidas cruas, pois o muco, translúcido e aderido firmemente, pode passar despercebido e não ser removido por lavagem.

Morera, em 1980, propôs o resfriamento em geladeira das verduras, por cerca de 12 horas, como medida preventiva<sup>5</sup>. Richinitti e Graeff-Teixeira (dados não publicados) demonstraram que a ação do frio (5°C) pode reduzir de 98 a 100 % da viabilidade das larvas, somente após três dias, o que torna o procedimento pouco prático.

A ação larvicida da solução de hipoclorito de sódio a 1,5% ficou evidente: as larvas incubadas com este reagente não estabeleceram infecção em camundongos. Tal concentração é recomendada na profilaxia do cólera<sup>8</sup>. Com eficácia menor, vinagre e salmora não apresentaram diferenças significativas entre si, embora a redução de larvas viáveis tenha sido grande (91 e 97%). Não se conhece a correlação entre o número de larvas e a probabilidade de estabelecer-se a infecção no homem. Entretanto, é possível que a carga parasitária seja importante fator na patogenia, tornando útil um procedimento que reduza significativamente o número de larvas viáveis. Há que se levar em conta que a utilização destes reagentes não deverá ser recomendada de forma isolada e que a inspeção e lavagem dos alimentos serão sempre o primeiro passo para a profilaxia desta e outras parasitoses.

O resultado obtido com o vinagre foi inesperado, já que no ciclo natural as larvas L3 estabelecem infecção no vertebrado após ingestão, passando pelo ambiente ácido do estômago, onde o pH baixo poderia inclusive funcionar como sinal para ativação<sup>5,6</sup>. Morera, em 1980, testou ácido acético e não obteve ação larvicida<sup>5</sup>. É difícil propor alguma explicação, enquanto não for dissecado o processo de inativação das larvas, especialmente, em relação ao vinagre, que é uma mistura não padronizada de várias substâncias, além do ácido acético.

O tempo de incubação de 12 horas é inviável do ponto de vista prático, na recomendação para a população tratar as verduras. Estão em andamento experimentos visando estabelecer o tempo e concentrações

mínimas eficazes, inclusive variando a temperatura. Este trabalho constituiu num estudo piloto, destinado a estabelecer a eficácia larvicida em condições extremas de tempo (12 horas), temperatura (5°C) e concentração dos reagentes testados.

Tanto o vinagre puro, como a salmora apresentaram ação deletéria sobre as larvas e seu uso deve ser recomendado nas áreas endêmicas, mesmo sem garantia de segurança total na eliminação das formas infectantes, pela razão de que o tratamento das verduras com estes reagentes deve ser parte de um conjunto de medidas profiláticas. O hipoclorito de sódio usado na concentração de 1,5% (v/v), é o mais eficaz e foi empregada a mesma concentração recomendada para lavar hortaliças e verduras, dentre os cuidados com o cólera<sup>8</sup>. Com qualquer dos reagentes, os alimentos teriam de ficar em imersão e, obviamente, seriam enxaguados em água fervida antes do consumo.

Numa parasitose de provável alta prevalência, nos focos de transmissão, com inúmeros casos de regressão espontânea, sem tratamento anti-helmíntico adequado, resta a intervenção primária na história natural, com a prevenção da infecção. Esta é a importância da identificação de atividade inibitória da viabilidade das formas infectantes (L3) em substâncias de baixo custo e disponíveis à população vivendo nas áreas de transmissão da angiostrongilose abdominal.

## SUMMARY

*There is a high prevalence of accidental human infection with *Angiostrongylus costaricensis* in some areas in southern Brazil and sometimes it presents as severe intestinal disease. Prophylaxis is important since there is no medical treatment for the disease. The ingestion of fruits and vegetables contaminated with the mucous secretion of infected molluscs (the intermediate hosts) is one of the proposed modes of transmission. Third stage larvae were incubated at 5°C for 12 hours, in solutions of saturated sodium chloride, vinegar and sodium hypochlorite 1.5%. The larvae had their viability tested through inoculation into albino mice. The percentage of larvae that established infection were 0% in the group treated with sodium hypochlorite, 1.8% with NaCl and 2.4% with vinegar. In conclusion, all*

*substances tested reduced the population of viable larvae and may be useful in food decontamination, as a prophylactic measure for abdominal angiostrongylosis.*

*Key-words: Abdominal angiostrongylosis. Food-borne diseases. Helminthic zoonosis.*

## AGRADECIMENTOS

À Eva Medeiros pelo apoio técnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Graeff-Teixeira C, Avila-Pires FD, Machado RCC, Camillo-Coura L, Lenzi HL. Identificação de roedores silvestres como hospedeiros do *Angiostrongylus costaricensis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 32:147-150, 1990.
2. Graeff-Teixeira C, Camilo-Coura L, Lenzi HL. Angiostrongilíase abdominal - uma nova parasitose no sul do Brasil. *Revista da AMRIGS, Porto Alegre* 35:91-98, 1991.
3. Graeff-Teixeira C, Camilo-Coura L, Lenzi HL. Histopathological criteria for the diagnosis of abdominal angiostrongyliasis. *Parasitology Research* 77:606-611, 1991.
4. Morera P. Life history and redescription of *Angiostrongylus costaricensis* (Morera & Céspedes, 1971). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 22:613-621, 1973.
5. Morera P. Angiostrongiliasis abdominal: Transmision y observaciones sobre su posible control. Control y erradicacion de enfermedades infecciosas. *In: Resúmenes del Simposio Internacional OMS/OPS, Série de copublicaciones de la OPS, n 1, 1986.*
6. Morera P, Bontempo I. Accion de algunos anthihelminticos sobre *Angiostrongylus costaricensis*. *Revista Medica Hospital Nacional de Niños de Costa Rica* 20: 165-174, 1986.
7. Wallace GD, Rosen L. Techniques for recovering and identifying larvae of *Angiostrongylus cantonensis* from molluscs. *Malacologia* 7:427-438, 1969.
8. Zenebon O, Duarte de Maio F, Sakuma AM, Rosa E. Determinação de mercúrio em águas sanitárias comercializadas em região do sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública* 28:127-130, 1994.