

ALGUMAS OBSERVAÇÕES
SÔBRE A VIDA DO NEMATÓIDE DO VINAGRE —
TURBATRIX ACETI

por

JAIR CORRÊA DE CARVALHO

Engenheiro agrônomo do Instituto Biológico
em comissão no Instituto Adolfo Lutz

e

JORDANO MANIERO

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

INTRODUÇÃO E HISTÓRICO

Estudando a morfologia de um nematóide encontrado com abundância em massa de tomate, reunimos elementos para concluir que se tratava de *Panagrellus redivivus* (Linn., 1767) Goodey, 1945, espécie comumente encontrada em massas sujeitas à fermentação.

Observada a presença de tão grande número de vermes mortos em tal produto alimentar, que o tornara impróprio para o consumo, ocorreu-nos a possibilidade de distúrbios gástricos determinados pela ingestão de tão grande número de vermes. Uma pesquisa na literatura concernente ao assunto impunha-se, para esclarecer o problema, com observações positivas de ocorrências dessa ordem, provocadas por helmintos do mesmo gênero. Ainda que *Panagrellus* constitua um gênero distinto de *Turbatrix*, é inegável que algumas das suas espécies são tão próximas deste último que o helminto da massa de tomate fôra, a princípio, identificado por outro pesquisador como *Anquillula aceti*, nome antigo do *Turbatrix aceti*, o verme do vinagre. E, assim, os estudos biológicos realizados para *Turbatrix* adaptam-se para aquelas espécies de *Panagrellus*.

No trabalho para identificar o *Panagrellus redivivus*, estudamos também os caracteres de *Turbatrix aceti* (Fig. 1-a-b-c-d), com o objetivo de mostrar as diferenças entre as duas espécies. Tendo, portanto, quantidades apreciáveis deste helminto em vinagre armazenado, resolvemos submetê-lo a algumas provas, para ver se coincidiam com os resultados obtidos por Peters e por outros autores; podíamos ter uma outra espécie de *Turbatrix* e não a mesma de que se serviram àquêles pesquisadores.

Turbatrix aceti, o nematóide do vinagre, como é chamado, é conhecido desde que PETRUS BORELLUS (1656) publicou, sobre êle, uma nota em "Observationum Microscopicarum Centuria". Êle tem sido objeto

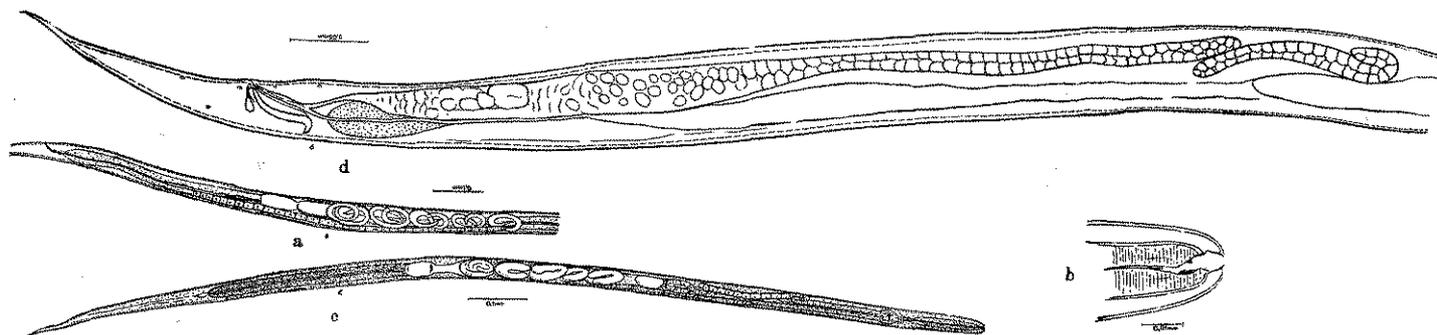


Fig. 1. *Turbatrix acetii*. a, parte posterior da fêmea; b, cabeça; c, fêmea com ovário em posição normal; d, cauda do macho.

de estudo de muitos pesquisadores, que investigaram quase tudo o que se refere à sua biologia. Apesar de muitos desses trabalhos serem de alto valor científico, ainda perduram algumas dúvidas sobre a vida deste verme. A sua alimentação, por exemplo, que alguns pesquisadores acreditam ser constituída de bactérias, principalmente de *Mycoderma acetii*, fermento indispensável na indústria do vinagre, é contestada por outros que não observaram prova dessa suposição em suas experiências. Também sua origem é ainda assunto para estudo, pois tudo o que foi observado ainda não foi suficiente para esclarecê-la de maneira categórica.

As nossas modestas observações não têm o objetivo de resolver esses problemas, mas tão somente mostrar que a espécie com que trabalhamos é a mesma dos autores europeus e que as nossas observações aproximam-se muito dos resultados por eles obtidos.

OBSERVAÇÕES BIOLÓGICAS

As observações que pudemos realizar constaram em: a) submeter os vermes no vinagre às temperaturas de 37° e 41° C; b) examinar sua resistência em meio ácido e alcalino; c) verificar a necessidade de oxigênio para sua respiração; d) estudar a contaminação do vinagre; e) cultivar o nematóide em meios de cultura.

a) Submeter os vermes no vinagre às temperaturas controladas de 37° e 41° C:

Em placas de Petri contendo vinagre altamente infestado (cerca de 3.000 por cm³ contados em lâmina de Pasteur), submetemos os nematóides à temperatura de 37° C. Notamos que, nesta temperatura, os vermes não se desenvolveram e muitos morreram no decorrer dos primeiros dias. Depois de 20 dias, ainda observamos alguns vivos, mas a maioria havia morrido. A temperatura de 41° C foi-lhes fatal, pois 1,00 h após iniciada a experiência todos estavam mortos.

Em baixa temperatura, só fizemos experiências colocando os vermes diretamente no gelo. Nesse ambiente, verificamos que resistiram bem 168 h.

Alguns pesquisadores fizeram provas mais completas sobre a resistência do nematóide às diversas temperaturas. LINDNER (1889) achou que as temperaturas entre 16° e 30° C são as mais favoráveis para a sua reprodução. As temperaturas superiores a 36° C aumentam por pouco tempo sua atividade, mas o fazem perdê-la entre 40° e 42° C. As temperaturas superiores a 42° C são fatais, provocando a morte quase instantânea. Por outro lado, observou Lindner que as temperaturas abaixo de 0° C são fatais ao verme.

Os dados de PALLECCHI (1893) são acordes com os de Lindner, com referência à resistência às altas temperaturas; achou ele que os vermes podem viver por 1,00 h a 40° C, mas morrem em 2 minutos a 45° C. Com referência à resistência à baixa temperatura, as observações de Pallecchi não são acordes com as de Lindner. Em cultura de vermes, submetida ao gelo e sal, com temperatura de -20° C, observou que raros sobreviveram por pouco tempo e, em temperaturas de 0° e -5° C, são praticamente indiferentes, não parecendo sofrer com o frio, diz ele.

HENNEBERG (1900) estabeleceu que as temperaturas entre 20° e 29° C são as mais próprias para o desenvolvimento do nematóide. Para permanecerem vivos, a temperatura não pode exceder de 34° C e ultrapassar o mínimo de 5° C. Notou ainda Henneberg que abaixo de 14° C não há reprodução; em vinagre congelado, permanecem vivos por 15,00 h e podem viver por 5,00 h em -20° C.

PETERS (1928) fez observações conjuntas de temperatura e iluminação, notando a nenhuma influência da luz na vida do verme. Em temperatura de 37° C, observou redução do número de vermes e menor atividade nos restantes. No fim de 9 dias, todos estavam mortos. A -5° C, houve ainda aparecimento de formas jovens, mas, no fim de 46 dias, havia poucos sobreviventes.

b) Influência da acidez e da alcalinidade sobre o nematóide :

Em temperatura ambiente, mantivemos placas de Petri com vinagre infestado, cujo pH fizemos baixar a 1,9. Outras placas tiveram seu pH baixado para 1,6; em ambos os casos, aumentamos a acidez com adição de ácido sulfúrico. Nas caixas com pH 1,9, os vermes resistiram até 24,00 h. Em meio mais ácido, pH 1,6, a mortalidade foi completa em menos de 24,00 h.

Êstes resultados estão muito próximos daqueles obtidos por Peters, em suas experiências. Êsse pesquisador notou que em pH 1,0, depois de 3,00 h, 50% dos vermes estavam mortos e os restantes moviam-se lentamente no fundo da placa. Em pH 1,4, no mesmo espaço de tempo, 20% dos vermes permaneciam no fundo da placa e os restantes ainda ativos. Em pH 1,8, apenas 5% permaneciam no fundo e o restante em franca atividade. Depois de 6,00 h, os resultados foram os seguintes :

pH 1,0 — todos mortos.

pH 1,4 — 10% mortos, 70% no fundo com poucos movimentos e os restantes vivos.

pH 1,8 — 5% mortos, 20% no fundo com poucos movimentos e os restantes vivos.

Depois de 300 h :

pH 1,4 — todos mortos.

pH 1,8 — a maioria ainda viva.

Por outro lado, os ensaios que levamos a efeito para determinar o limite de tolerância do nematóide às mais baixas concentrações de íons de hidrogênio são acordes com os resultados de Peters. Verificamos que os vermes suportam bem um líquido com pH 11,2 por mais de 24,00 h; em pH 11,6, contudo, não resistiram além de 24,00 h. Em ambos os casos, o meio foi alcalinizado com adição de soda. O limite estabelecido por Peters foi de um pH 11,0.

c) Necessidade de oxigênio e gravidade específica :

A tendência que tem o verme de permanecer na parte superior do líquido fez originar a hipótese sustentada por muitos pesquisadores de

que eles assim o fazem em busca de oxigênio para a sua respiração. Essa opinião, contudo, foi destruída por experiências que comprovaram que, mesmo tendo oxigênio na parte inferior de um tubo, os vermes permaneciam na parte superior do mesmo. O fato de permanecerem os vermes em atividade na parte superior do frasco é assunto ainda não entendido pelos pesquisadores. É fora de dúvida que os vermes têm gravidade específica maior do que o vinagre e a sua presença nas camadas superiores do líquido deve-se, sem dúvida, a seus próprios esforços. Os vermes mortos e os vivos que passaram por uma centrifugação são rapidamente trazidos para o fundo do tubo. A suposição de que eles procuram as partes superiores, por ser menor a pressão do fluido, foi desfeita pelos trabalhos de Peters, nos quais mostrou a nenhuma influência da pressão do líquido sobre a posição dos vermes nas camadas superiores.

As nossas experiências foram uma repetição do que já fôra feito antes por outros pesquisadores, para comprovar que os vermes têm muito pouca necessidade de oxigênio para sua sobrevivência.

Em um tubo com Sabouraud líquido, em posição vertical puzemos 10 ml de vinagre infestado, recobertos com vaselina líquida, a fim de evitar a penetração do ar. Mantivemos êsses tubos em observação por longo tempo, vendo sempre a maioria dos vermes na parte superior do líquido, em grande atividade. Depois de 6 meses, foram encontrados alguns ainda vivos. Com o mesmo objetivo, realizamos outro experimento, que constou



Fig. 2. Pipeta de Pasteur.

de um tubo (Fig. 2), com ponta afilada do lado inferior, (pipeta de Pasteur); na parte central, puzemos 2 ml de vinagre infestado (ceérca de 6.000 vermes), de modo a reter o ar na parte inferior afilada e cobertos por uma camada de vaselina líquida. Observamos os vermes em atividade na parte superior do tubo. Essas experiências provaram que eles têm pouca necessidade de oxigênio para permanecerem vivos e em reprodução.

d) Contaminação do vinagre. Origem do nematóide :

Permanece desconhecida a origem do nematóide do vinagre. Permaneceram alguns pesquisadores que êle habitasse o solo e chegasse até o vinagre por meio da uva de que é feito. Mas como observou Henneberg, o verme não tem sido encontrado na natureza e, além disso, vinagre fabricado com outros produtos que não a uva também contém o verme.

A maneira da contaminação do vinagre também não é questão resolvida. Para muitos, a recontaminação do vinagre tratado e filtrado se dá por meio de mósca do gênero *Drosophila*. (O tratamento do vinagre é feito por dois processos : com adição de ácido sulfúrico, ou com aquecimento a 54° C e completado com uma filtração). Em laboratório, obtive-

mos vinagre limpo, por meio de duas filtrações, com intervalo de 5 dias da primeira para a segunda.

Com o objetivo de tentar a contaminação por meio de u'a mósca do vinagre, talvez a verdadeira mósca do vinagre — *Drosóphila funebris*, mantivemos 2 placas de Petri, recobertas por uma campânula de vidro (Fig. 3),

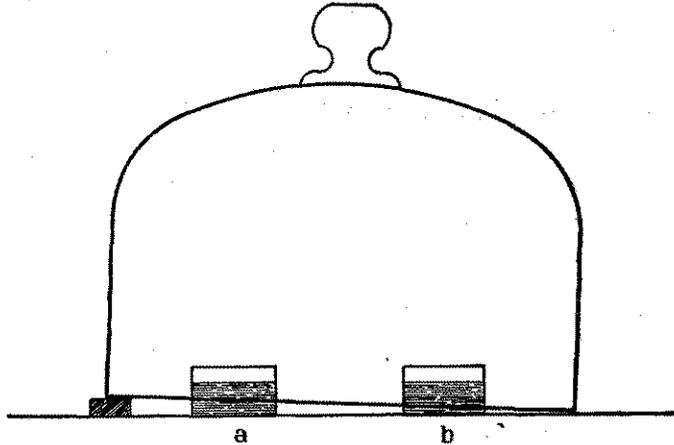


Fig. 3. Placas de Petri cobertas por uma campânula.

ligeiramente levantada de um lado para dar passagem às mósca. Numa das placas, puzemos vinagre altamente infestado e, na outra, vinagre inteiramente limpo dêsses vermes. Essa exposição permaneceu por longo tempo, sendo repetida por mais vêzes, sem jamais haver infestação da placa contendo vinagre limpo. Parece, assim, que a infestação não se dá diretamente pelas mósca, pois estas eram vistas sôbre o vinagre das duas placas e, sem dúvida, passavam de uma para outra muitas vêzes por dia, sem ocorrer a infestação. DAVAINE manteve frascos com vinagre expostos ao ar por mais de 10 anos, não conseguindo a contaminação natural.

e) Meios de cultura :

Usamos, para criar os vermes, o meio líquido de Sabouraud, com muito bom resultado. Também usamos Sabouraud sólido com êxito. Contudo, achamos melhor os meios constituídos de sucos de frutos, principalmente suco de uva e água. Podem viver também em meio de água açucarada, no qual, porém, certo autor verificou que os vermes vivem por algum tempo, mas não há procriação ; contudo, em nossas experiências, ao contrário, observamos o aparecimento de formas jovens.

Henneberg já havia notado a influência da alimentação no desenvolvimento do verme, estabelecendo o conceito : “O tamanho do verme varia de acôrdo com sua alimentação. As formas mais desenvolvidas são encontradas em líquidos ricos de bactérias e de matéria orgânica”. Observamos realmente que, quando o meio é favorável, é freqüente o aparecimento de formas mais desenvolvidas.

A PRESENÇA DO *TURBATRIX*

NO VINAGRE E A QUESTÃO DA SUA PATOGENICIDADE

Todos os autores são acordes em que o verme deprecia grandemente o vinagre. Del Río, citado por Peters, concluiu que um vinagre infestado não deve ser usado na alimentação do homem, pelos seguintes motivos:

1) indica que o vinagre é pobre de qualidade (contendo menos de 4% de ácido acético);

2) pela repugnância em consumir um tal produto.

Como se vê, o autor acima citado nem se referiu a um possível parasitismo do verme, uma vez dentro do organismo humano, que outros acharam viável. Lindner chegou mesmo a relacionar certos distúrbios gástricos à ingestão deste helminto, no caso dos moradores de uma pensão cuja cozinha usava vinagre infestado para preparo dos alimentos. Cessado o emprêgo deste vinagre, também cessou o mal que acometera a todos. Lindner, querendo provar a sua patogenicidade, fez alimentar um rato com um líquido contendo desses vermes, no qual, depois de morto, foram encontrados vermes ainda vivos na região cardíaca do estômago, muitos mortos no piloro e maior número de mortos do que vivos no duodeno e no jejuno. Lindner concluiu, dessa experiência, que a bÍlis foi fatal ao verme.

Como vimos atrás, o nematóide deve suportar bem um líquido levemente alcalino como é a saliva, cujo pH a 37° C é de 6,9; o conteúdo do intestino delgado, pH 8,3; a bÍlis, pH 5,3 — 7,4; as fezes, pH 7,1 — 8,8; mas o suco gástrico, cujo pH 0,9 — 1,6, está na vizinhança do limite de tolerância, deve ser-lhe fatal em poucas horas. Isso parece ter sido comprovado com a experiência feita por Peters, que fez um paciente beber, uma cultura rica, diluída em água adocicada, por três vÉzes, num total de cerca de 36.000 vermes. Peters não observou sintomas de infestação e as fezes examinadas não revelaram a presença de vermes vivos ou mortos.

RESUMO E CONCLUSÕES

Os resultados obtidos referentes aos limites de temperatura máxima e mínima, resistência aos meios ácidos e alcalinos, a sua preferência por alguns meios de cultura parecem indicar, sem nenhuma dúvida, que a espécie por nós estudada é a mesma com que trabalharam Peters e os outros autores.

As conclusões dos outros pesquisadores, parece, não deixaram dúvidas de que o verme não é parasita do homem. Ingerido vivo, sofre, primeiro, a ação da temperatura que não lhe é favorável, e, em seguida, não resiste à acidez do suco gástrico. A ingestão de grande número desses vermes pode, talvez, provocar distúrbios gástricos devidos aos enzimas existentes no seu conteúdo.

SUMMARY

Our observations on the influence of the temperature, acidity, alkalinity and culture media agree with the idea that we are in presence of *Turbatrix aceti*.

From a study of the literature concerning this worm, we learned that it does not seem pathogenic to man.

The following conclusion were drawn from our tests :

- 1) Confirmation was obtained that the species under study has little need of oxygen.
- 2) It can stand, for several days, the temperature of 37° C, which, however, does not favor its growth.
- 3) In acid media, it tolerates the pH 1,9 for 24 hrs. ; but it does not stand a pH lower than 1,6.
- 4) The limit of resistance to the hydrogen concentration on the alkaline side was pH 11,2.

BIBLIOGRAFIA

- BORELLUS, PETRUS — 1656 — Oservationum Microspicarum Centuria (*In De vero Telescopii Inventore* . . . p. 1-45). Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- DAVAINE, C. — 1865 — Recherches sur l'anguillule du vinagre (*Rhabditis aceti* Dujardin). *C. R. Acad. Sci.* 61 : 259-262. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- HENNEBERG, W. — 1900 — Zur Biologie des Essigaales (*Anguillula aceti*). *Zentralbl. f. Bakt.* 6 : 180-184. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- LINDNER, G. — 1889 — Studien über die Biologie und hygienische Bedeutung der im Essig lebenden Nematoden. *Zentralbl. f. Bakt.* 6 : 633-638, 663-668, 694-698. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- PALLECCHI, T. — 1893 — Sulla resistenza vitale dell'Anguillula dell'aceto. *Atti Soc. Ligust. Sci. Nat. Geogr.* 4 : 332-343. Citado por B. G. Peters, *In J. Helminthology* 6(1) : 1-38, 1928.
- PETERS, G. B. — 1928 — On the bionomics of the vinegar eelworm. *J. Helminthology* 6(1) : 1-38.