

ISOLAMENTO DE OOCISTOS DE TOXOPLASMA GONDII EM DOIS BAIRROS DE RECIFE (PE)

Djaira Silva de AZEVEDO (1), Lígia M. Ferreira JAMRA (2) e Márcia de Fátima RIBEIRO (2)

R E S U M O

De 115 amostras de solos de quintais, jardins e terrenos baldios, freqüentados por gatos, de 2 bairros de Recife (Pe), foi isolado o *Toxoplasma gondii* de 2 amostras, uma em cada bairro. A 1.^a, de terreno peridomiciliar, úmido; a 2.^a, de terreno baldio, à sombra. As amostras, após emulsionadas em água, foram tratadas pelo método da flutuação em sacarose (densidade 1,15). Os sobrenadantes foram inoculados, por via peritoneal, em camundongos albinos. A positividade foi evidenciada pelo encontro de cistos no cérebro, pela presença de anticorpos sanguíneos à reação de Sabin e Feldman e pela manutenção das cepas em passagens sucessivas em camundongos. As condições climáticas locais desfavoráveis (temperaturas elevadas constantes, precipitações pluviais inconstantes e ventos de pequena intensidade, mas constantes) aliadas à possível perda da infectividade durante o transporte, explicam, talvez, o reduzido número de amostras positivas encontradas.

I N T R O D U Ç Ã O

FLECK & col.³, em 1972, foram os primeiros a isolar o *Toxoplasma gondii* de amostras de terra e areia do jardim de uma residência, em que três moradores tinham anticorpos anti-toxoplasma, sendo que um deles apresentava linfadenite. A areia costumava ser freqüentada por um gato da vizinhança e, na ocasião da coleta, apresentava-se úmida.

No ano seguinte, RUIZ & col.⁷ isolaram o parasito em 4 de 15 amostras de solo do quintal de uma residência e de uma plantação de café adjacente, onde existiam numerosos gatos. O isolamento ocorreu em locais com sombra ou úmidos, não ocorrendo em local exposto ao sol.

Em 1977, RUIZ & FRENKEL⁸ também isolaram oocistos duas vezes em 9 amostras de poeira e detritos encontrados nos forros de casas, nos quais viviam gatos.

Entre nós, AMENDOEIRA & LOPES¹ pesquisaram oocistos em amostras de terra de duas hortas, freqüentadas por gatos, amostras estas coletadas em locais úmidos e sombreados. Obtiveram, em uma delas, "organismos semelhantes a taquizoitos", na 3.^a passagem em camundongos.

Na cidade de Recife, a prevalência de anticorpos contra o *Toxoplasma gondii* tem sido encontrada alta: 73,4% (MONTENEGRO & col.⁶), e 74,7% (AZEVEDO & col.²), ambas pela reação de Imunofluorescência indireta.

Diante desse alto índice de infecção e conhecendo a elevada população de gatos da cidade, foi tentado o isolamento de oocistos de *Toxoplasma gondii* de solos de jardins, quintais e terrenos baldios de dois bairros de Recife, usando o método da inoculação em camundongos.

Parte da tese de doutoramento de D.S.A. executada no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da U.S.P., em 1981

(1) Instituto de Ciências Biológicas da Fundação de Ensino Superior de Pernambuco, Universidade de Pernambuco, Brasil

(2) Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi feita nos bairros de Cajueiro e Campina do Barreto, da cidade de Recife,

Pernambuco (Fig. 1). Esses dois bairros, exclusivamente residenciais, são bastante arborizados e ainda apresentam terrenos baldios, frequentados por crianças e animais da vizinhan-

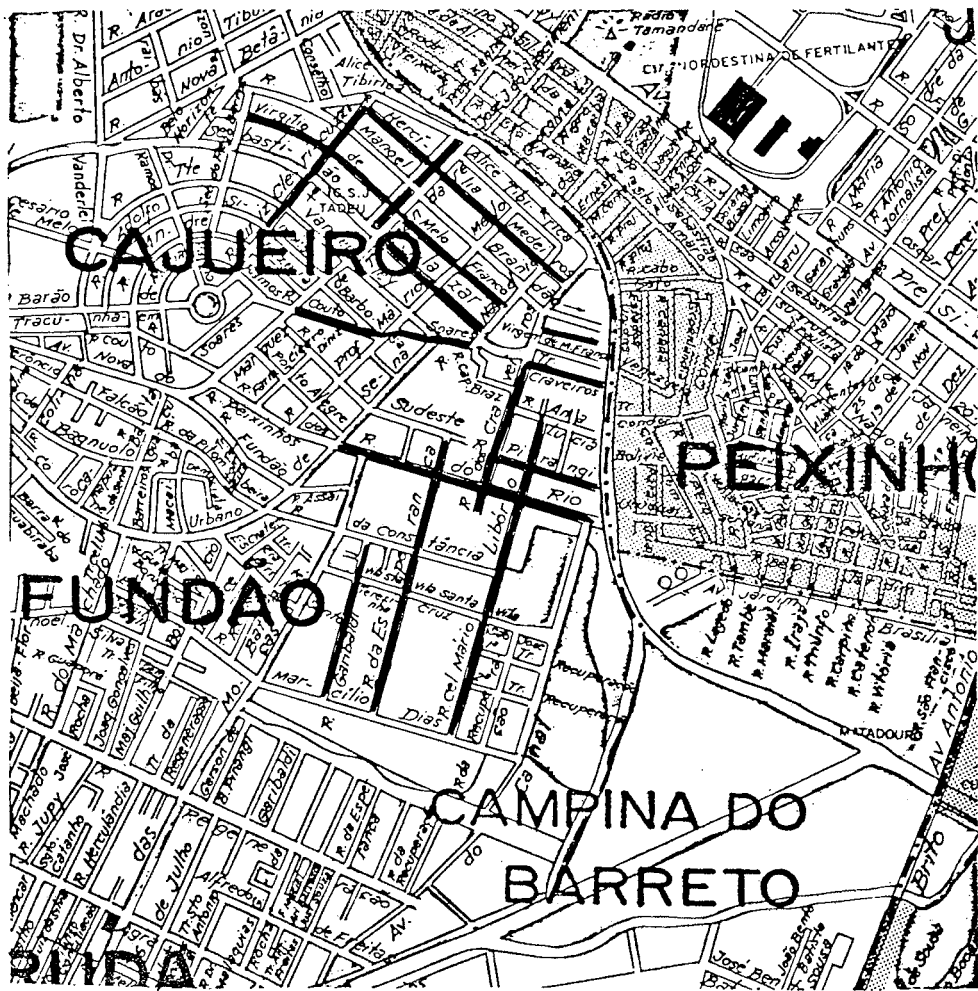


Fig. 1 — Mapa dos bairros de Cajueiro e Campina do Barreto, Recife, PE.

Escala 1:14.000.

— ruas pesquisadas

ça. Por essa razão foram incluídos no inquérito 53 casas e 7 terrenos baldios escolhidos ao acaso. As residências eram unifamiliares e pertenciam a moradores de nível econômico médio. De cada casa ou terreno baldio foram colhidas 2 amostras de solos, em locais diferentes, com sombra, sem sombra ou úmidos (Tabela I).

Os solos apresentavam-se ora arenosos, ora com humo e na maioria das vezes, argilosos. As amostras foram colhidas a uma profundidade de mais ou menos 5 cm, com uma colher.

Aproximadamente 10 g foram colocados em pequenos frascos de vidro, fechados com tampas plásticas, rotulados e enviados pelo correio (entrega rápida), chegando a S. Paulo dentro de cinco dias. No laboratório as amostras eram guardadas na geladeira a 4°C, até o momento de serem preparadas.

O material foi coletado entre janeiro e agosto de 1980. As médias das temperaturas, das precipitações pluviais totais e das veloci-

dades dos ventos, durante esse período, foram fornecidas pela Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste (Sudene), estação Curado, Pe. (Tabela II e Fig. 2).

TABELA I
Distribuição das amostras segundo os bairros e as condições dos solos

Bairros	Terrenos Domiciliares				Terrenos Baldios			
	com sombra	sem sombra	úmido	Total	com sombra	sem sombra	úmido	Total
Cajueiro	28	29	19	76	1	1	—	2
Campina do Barreto	10	7	10	27	5	2	3	10
Total	38	36	29	103	6	3	3	12

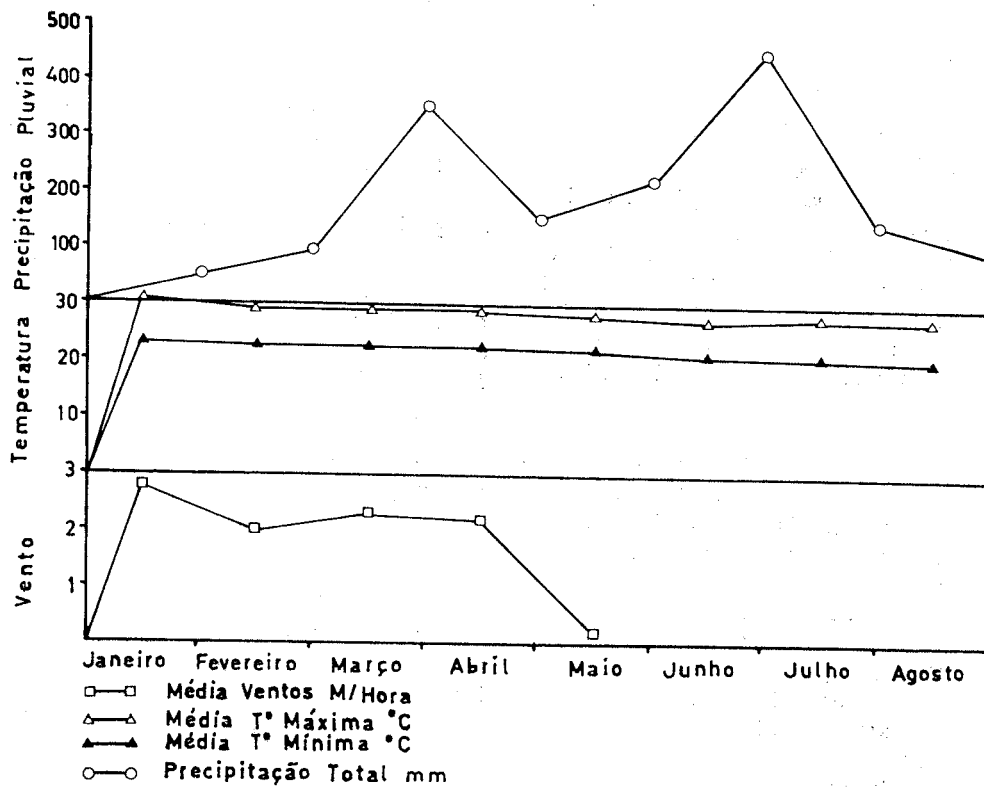
TABELA II
Médias de temperaturas máximas e mínimas, precipitação pluvial total e velocidade do vento, no período de janeiro a agosto de 1980

Meses	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AG
T° máxima — média	30,5	29,8	29,3	29,2	28,4	27,7	27,9	27,9
T° mínima — média	23,1	22,6	22,7	22,4	22,0	21,4	20,9	20,2
Pp. pluvial-total	49,9	92,8	354,0	151,5	221,6	456,3	140,7	97,9
Vel. do vento-média	2,8	2,0	2,3	2,2	0,2	—	—	—

Temperatura em °C

Precipitação pluvial total em mm

Velocidade do vento em milhas/hora



As médias das temperaturas máximas e mínimas mensais oscilaram, respectivamente de 2,5°C e 3°C, durante esse período. Estas temperaturas do ar, tomadas a 2m de altura, são sempre inferiores às temperaturas do solo. Por exemplo, a uma temperatura do ar de 30°C ao sol, pode corresponder uma temperatura do solo de 50°C ou mais. As precipitações pluviais totais mensais variaram de pequenas a muito grandes. As médias das velocidades dos ventos, variaram de ventos calmos a quase calmos.

Foram obtidos dados sobre o número e a idade dos moradores (sem distinção de sexo e cor) e a presença de animais domésticos. Esses dados revelaram 285 moradores, sendo 199

em Cajueiro e 86 em Campina do Barreto. A frequência maior foi de moradores de mais de 15 anos, sendo assinaladas 23 crianças menores de 5 anos. A distribuição dos animais domésticos pelas casas e terrenos dos dois bairros é apresentada na Tabela III.

O número de gatos variou de 1 a 9, nos dois bairros, sendo que em 5 casas havia convivência de crianças menores de 5 anos com gatos. Foram obtidas amostras de fezes de 19 gatos para pesquisa de oocistos de *Toxoplasma gondii*.

Preparo das amostras de solos — Foi seguido, com algumas modificações, o método descrito por RUIZ & col.⁷. O solo foi emulsionado

TABELA III

Distribuição do número de casas e terrenos dos dois bairros segundo a presença ou não de animais

Bairros	Casas e terrenos				Sem animais
	Gatos	Cães	Galinhas	Outras aves (*)	
Cajueiro	16	16	13	6	12
C. Barreto	10	6	5	3	5
Total	26	22	18	9	17

(*) Pássaros, papagaios e rolinhas

em água de torneira, filtrado através de gaze para um tubo de centrifugação graduado e deixado decantar por uma hora. O sobrenadante foi desprezado com auxílio de pipeta de Pasteur. O sedimento foi ressuspenso em cerca de 10 volumes de solução de sacarose (açúcar comum) de densidade 1,15 e centrifugado por 10 minutos a 2.500 rotações por minuto. O sobrenadante foi aspirado, através de agulha hipodérmica, para uma seringa e imediatamente inoculado.

Inoculação em camundongos — Dois camundongos albinos, machos, de 20 a 25 g. foram inoculados, por via intraperitoneal, com 0,5 ml da suspensão de cada amostra. Os camundongos foram sacrificados 30 a 45 dias após a inoculação. Foram retirados o sangue, por punção cardíaca, para a pesquisa de anticorpos e o cérebro, para a pesquisa de cistos. Nos camundongos encontrados mortos, apenas o cérebro foi examinado. Nos mortos antes de 30 dias, sempre que possível, foi colhido e examinado o exsudato peritoneal, para a pesquisa de taquizoitos.

Reação de Sabin & Feldman — A pesquisa de anticorpos sanguíneos foi feita pela reação de SABIN & FELDMAN⁹, modificada por JAMRA & GUIMARÃES⁵, considerados os títulos $\geq 1:16$ como positivos.

Exame parasitológico de fezes — As fezes dos gatos foram examinadas segundo a técnica de Willis, (flutação pela solução saturada de cloreto de sódio) efetuando-se a leitura após 15-20 minutos.

RESULTADOS

Os resultados estão apresentados na Tabela IV.

COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

A possibilidade do encontro de oocistos no solo depende de alguns fatores, como foi observado pelos vários Autores citados. Em primeiro lugar, a população de gatos e nesta, a presença de gatos jovens, que são mais suscetíveis, sofrem a fase aguda da infecção e eliminam maior quantidade de oocistos do que os adultos. Entretanto, este fator pode ser compensa-

T A B E L A IV
Isolamento de *Toxoplasma gondii* em 115 amostras de solos de Recife (Pe)

Amostras positivas (1,73%)	Terreno	Camundongos	
		1.º repique	2.º repique
48	domiciliari, úmido	1.º morto 18.º d cérebro + (cistos)	exsudato + (1c) cérebro + (1c) RSF 1:256 (1c)
		2.º sacrificado 35.º d RSF e cérebro —	
50	baldio, à sombra	1.º morto 20.º d cérebro + (cisto)	cérebro + (2c) RSF 1:64 (2c)
		2.º sacrificado 32.º d cérebro — RSF 1:256	

d = dia c = camundongos RSF = reação de Sabin-Feldman + = positivo |—| = negativo

do pela sobrevivência dos oocistos no solo, em condições ótimas, até 1 ano e pela possibilidade dos gatos adultos se reinfetarem e reeliminarem oocistos, embora irregularmente (SORGEB¹⁰).

Em segundo lugar, condições climáticas locais mais ou menos constantes: temperaturas não elevadas, índices pluviométricos satisfatórios e ausência de ventos fortes, condições que, aliadas à existência de vegetação, contribuem para manter a umidade do solo.

O encontro dos oocistos de *Toxoplasma gondii* em apenas duas amostras de solos das 115 pesquisadas (1,73%), mostra, talvez, que as condições locais não foram muito favoráveis.

As temperaturas foram elevadas, com máximas em torno de 29°C e mínimas em torno de 22°C e quase constantes, com pequenas oscilações médias de 2,5°C para máximas e 3°C para as mínimas.

Se considerarmos que a estas temperaturas do ar correspondem temperaturas mais elevadas no solo, teremos, neste caso, condições ainda mais desfavoráveis. As precipitações pluviométricas totais foram inconstantes, variaram de 49,9 a 92,8 mm, consideradas pequenas e médias, nos meses de janeiro e fevereiro, a 354,0 e 456,3 mm, consideradas muito grandes, nos meses de março e junho.

Nos últimos meses foram observadas precipitações mais altas, coincidindo com temperaturas mais baixas. Provavelmente estas condições tenham favorecido o encontro de duas amostras positivas (48 e 51), as quais foram colhidas no mês de agosto, a 1.ª em local úmido e a 2.ª em local à sombra.

A existência de brisa marítima, de pouca intensidade, mas quase contínua, favorecendo a evaporação ao nível do solo, aliada à predominância de gatos adultos, talvez contribuissem, também, para o reduzido número de amostras positivas encontradas. Não pode ser afastada, ainda, a possibilidade de perda da infectividade de algumas amostras, durante o transporte até o laboratório.

Na área pesquisada foram assinaladas 13 residências com 23 crianças menores de 5 anos. Em 26 locais examinados, incluindo residências e terrenos baldios, existiam 1 a 9 gatos. Essa relação criança-gato é de significativa importância epidemiológica, em vista da conhecida suscetibilidade dos organismos jovens às infecções (FRENKEL⁴).

Assim, pelos dados anotados na ocasião da coleta das amostras, pudemos verificar que a amostra 48 correspondia a uma residência onde havia 3 crianças menores de 5 anos e gatos. A outra, 51, correspondia a um terreno baldio, entre residências, que era freqüentado por crianças, gatos e cães.

Em relação a outros resultados obtidos, temos a comentar que não foram encontrados oocistos de *Toxoplasma gondii* nos 43 sobrenadantes de solos e 19 emulsões de fezes de gatos, ao exame microscópico direto, apenas larvas de helmintos e oocistos de *Isospora* sp.

Em vista do encontro de oocistos infectante de *Toxoplasma gondii* em duas amostras de solos, chamamos a atenção para as áreas peridomiciliares freqüentadas por gatos que, sob condições ótimas para a sobrevivência dos

oocistos, podem ser fontes de infecção para o homem e para os animais.

Estas condições ótimas seriam: temperaturas não elevadas, precipitações pluviais mais ou menos contínuas e existência de vegetação, todas contribuindo para manter a umidade do solo.

SUMMARY

Isolation of *Toxoplasma gondii* oocysts from soils of Recife, Pernambuco State, Brazil

From 115 samples of soils of domestic gardens and unused grounds in the city of Recife (Pernambuco state, Brazil), all of them visited frequently by cats, the *Toxoplasma gondii* was isolated in two. One from a moist soil of a domestic garden; another from an unused ground, at shadow. The soils were emulsified with water, filtered and treated with sucrose (density 1,15) for fluctuation. The supernatant was then inoculated in albino mice, by peritoneal route. The positivity was based on the finding of brain cysts and serum antibodies by the dye-test.

Climatic conditions (temperature, rain and wind) are not favourable to the maintenance of the oocysts in soil. Probably that's the reason for the reduced number of positive results.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AMENDOEIRA, M. R. R. & LOPES, P. F. A. — Isolamento de *Toxoplasma* em solo de horta. Trabalho apresentado no V Cong. Brasil. Parasit. Fiocruz (R.J.), 1980.

2. AZEVEDO, D. S.; HYAKUTAKE, S. & SCHLODTMAN, A. G. — Prevalência de infecção toxoplásmica em doadores de sangue de Recife, Pe. Trabalho apresentado no XIX Cong. Soc. Bras. Med. Tropical e III Cong. Soc. Parasitologia, João Pessoa (Pb), 1978.
3. FLECK, D. G.; CHESSUM, B. S. & PERKINS, M. — Coccidian-like nature of *Toxoplasma gondii*. *Brit. Med. J.* 3: 111-112, 1972. (Correspondence).
4. FRENKEL, J. K. — Toxoplasmosis: parasite, life cycle, pathology and immunology. In: Hammond, D. M. & Long, P. L. (eds.). *The Coccidia-Eimeria, Isospora, Toxoplasma and Related Genera*. London, University Park Press, 1973, pp. 343-410.
5. JAMRA, L. M. F. & GUIMARAES, E. C. — Simplificações em técnicas para o estudo da Toxoplasmose. *Rev. Brasil. Pesq. Méd. Biol.* 9: 67-70, 1976.
6. MONTENEGRO, D.; LIRA, V. & AZOUBEL, E. — Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em soros de doadores de sangue no Recife, detectados por imunofluorescência indireta. *Rev. Microbiologia (S. Paulo)* 3: 177-178, 1972.
7. RUIZ, A.; FRENKEL, J. K. & CERDAS, L. — Isolation of *Toxoplasma* from soil. *J. Parasit.* 59: 204-206, 1973.
8. RUIZ, A. & FRENKEL, J. K. — Isolation of *Toxoplasma* from cat feces deposited in false attics of homes in Costa Rica. *J. Parasit.* 63: 931-932, 1977.
9. SABIN, A. B.; EICHENWALD, H.; FELDMAN, H. A. & JACOBS, L. — Present status of clinical manifestations of Toxoplasmosis in man. *J.A.M.A.* 150: 1063-1069, 1952.
10. SOGORB, S. F. — Estudo da reinfeção experimental do gato pelo *Toxoplasma gondii*. [Tese]. São Paulo, 1978.

Recebido para publicação em 4/11/1981.