

AÇÃO DO SAL DE COZINHA SOBRE O *Toxoplasma gondii*

Ligia M. Ferreira JAMRA(1); Maria Cristina MARTINS(2) & Monica de Paula L. VIEIRA(3)

RESUMO

O baixo resultado encontrado por nós no isolamento do *Toxoplasma gondii* de embutidos de carne de porco procedentes de Erechim (RS) (uma positiva em 40 amostras) levou-nos a pesquisar a ação do sal de cozinha, presente nesses embutidos, sobre taquizoitas e cistos do parasita.

Foram obtidos exsudatos peritoneais (taquizoitas) e macerados de cérebros (cistos) de camundongos previamente inoculados com cepas de *Toxoplasma gondii* isoladas do material de Erechim. A este inóculo foi acrescentado sal de cozinha refinado, comum, nas concentrações de 2,2%, 2,5% e 3,0% habitualmente usadas no preparo dos embutidos. O tempo de exposição ao sal foi de 24 e 48 horas, 3-5 e 7 dias, a 4°C, após o qual, camundongos albinos, machos, foram inoculados, por via intraperitoneal, com 0,5 ml desses inóculos, padronizados quanto ao número de parasitas.

Os resultados mostraram que, nas concentrações de sal a 2,2%, 2,5% e 3,0% e exposições de 24 e 48 horas, todos os camundongos inoculados com taquizoitas mais sal morreram, menos um, provavelmente não infectado, (um sobrevivente em 28 inoculados). Na concentração de 3,0% e exposição durante 3-5 e 7 dias houve 10 sobreviventes em 37 animais inoculados (27%), sendo que com 5 e 7 dias, 7 de 15 camundongos sobreviveram (46,6%).

Nos camundongos inoculados com cistos mais sal a 3,0% e exposições de 24, 48 e 72 horas, faltam anotações dos resultados; com exposições de 5 e 7 dias houve 17 sobreviventes e 3 mortos (85%).

Camundongos-controles para cada grupo foram inoculados nas mesmas condições, porém sem o sal. A morte destes ocorreu em 100%, sempre, mais cedo do que a dos camundongos-testes. O toxoplasma foi recuperado do exsudato peritoneal e do cérebro dos camundongos recém-mortos e moribundos, mas nunca dos sobreviventes.

Estes resultados evidenciam a ação inativante do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*, na concentração de 3%, durante um mínimo de 3 dias e, possivelmente, explicam a raridade do isolamento do parasita nos embutidos de carne de porco salgada do inquérito de Erechim.

UNITERMOS: *Toxoplasma gondii*; Ação do sal de cozinha; Transmissão

INTRODUÇÃO

A alta incidência de corio-retinites por toxoplasmose encontrada na população da cidade de Erechim (RS), 9%, segundo SILVEIRA (1987)⁸ e o hábito da ingestão de carnes cruas, principal-

Trabalho realizado no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Faculdade de Medicina da USP, 1988-1989.

1. Professora-Doutora, ex-Pesquisadora do I.M.T.S.P., ex-chefia do Laboratório de Toxoplasmose.

2. Médica, Pós-Graduada (doutorado) da Escola Paulista de Medicina, ex-estagiária do Laboratório de Toxoplasmose.

3. Técnica do Laboratório de Toxoplasmose.

mente de porco, levaram-nos à pesquisa do *Toxoplasma gondii* em carnes e embutidos comumente ingeridos por essa população (MARTINS et al., 1989)⁵. Dessa pesquisa resultou a tese de mestrado de M. C. MARTINS, 1989⁶.

Estes embutidos (linguiças, salsichas e salames) são preparados com carne de porco moída e salgada, sendo comum, nos domicílios, a ingestão durante o seu preparo.

Entretanto, o resultado do inquérito revelou a pequena freqüência de 5 casos positivos em 108 amostras examinadas, sendo 4 em 50 amostras de carne suína, zero em 18 de carne bovina e um em 40 amostras de embutidos.

Foi levantada, então, a hipótese de que o sal de cozinha, usado para salgar e conservar a carne, poderia ter inativado os toxoplasmas eventualmente existentes.

Em 1961, JACOBS, REMINGTON e MELTON² pesquisaram a resistência de cistos isolados de *Toxoplasma gondii* ao NaCl e concluíram que havia perda da infectividade para camundongos nas concentrações de 1,3 a 2,1%, com exposição ao sal durante 12 e 24 horas, à temperatura ambiente.

WORK⁹, em 1965, verificou que camundongos inoculados com carne de porco preparada (salgada em NaCl a 3% durante 3 dias a 5°C; salgada e desfumada durante 14 horas a 35°C; aquecida a 80°C por 1 1/2 hora, ou congelada a -40°C) apresentavam-se negativos, quer à reação de Sabin-Feldman, quer à presença de cistos nos cérebros.

Os camundongos inoculados com carne crua, porém, apresentavam-se positivos. Concluiu que nas carnes salgadas ou desfumadas a morte dos parasitas deveria ser causada por alterações na pressão osmótica.

Em 1981, JAMRA et al.³ pesquisaram a resistência de taquizoitas e cistos de *Toxoplasma gondii* a diversos fatores e chegaram à seguinte conclusão: os taquizoitas sobreviveram em NaCl 0,85% (solução fisiológica) a 4°C, durante 22 e 30 dias; os cistos em macerados de cérebros em salina a 0,85% e a 4°C sobreviveram 27 e 30 dias; em fragmentos de cérebro, 22 dias.

NAVARRO et al. (1988)⁷ verificaram a ação nociva do sal de cozinha sobre toxoplasmas, nas concentrações de 2,0 e 2,2%, após 48 horas sob refrigeração, trabalhando com linguiças feitas com carne de porco experimentalmente infectado.

Recentemente foram apresentados na III Jornada do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, resultados parciais desta pesquisa que já evidenciavam a ação do sal de cozinha sobre taquizoitas de *Toxoplasma gondii* (JAMRA et al., 1989)⁴.

Comprovada a ação do NaCl, dependendo da concentração, e do tempo de contacto sobre o toxoplasma, seria a salmoura, empregada no preparo dos embutidos, a causa dos baixos resultados encontrados no inquérito de Erechim?

Para esclarecer esse fato foi pesquisada, neste trabalho, a ação do sal de cozinha sobre taquizoitas e cistos do *Toxoplasma gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi usado o sal de cozinha comum, refinado, de única partida. Este é composto principalmente, de cloreto de sódio, mas contendo outros sais, como carboneto e sulfato de sódio, sulfato de cálcio e magnésio e iodeto de potássio, em pequenas proporções.

Empregaram-se as concentrações de 2,2%, 2,5% e 3%, esta última usada nos domicílios e nos frigoríficos para o preparo da carne de porco dos embutidos (MARTINS, 1989)⁶.

Foram retirados exsudatos peritoneais de camundongos previamente inoculados com várias cepas disponíveis de *Toxoplasma gondii* (N, S11, AS28) para a pesquisa da ação do sal sobre taquizoitas. Para a ação do sal sobre os cistos foram obtidos cérebros de camundongos com infecção crônica por cepa cistogênica (AS28, S11, S102, S103, S104 e S105). Estas cepas S foram isoladas de carnes suínas utilizadas no inquérito de Erechim; sendo que a S11 foi a única isolada de embutido de carne de porco. Não foram feitas contagens numéricas dos parasitas mas os inóculos foram padronizados quanto ao nº de taquizoitas (5 a 10) e de cistos (2 a 4) por campo microscópico. Para isso inóculos mais ricos foram diluídos com solução fisiológica a 0,85%.

O sal era acrescentado ao exsudato ou ao macerado de cérebro na concentração desejada e 0,5 ml da mistura inoculado, por via intraperitoneal em camundongos albinos, machos, de cerca de 25 gr e 2 meses de idade.

O tempo de exposição ao sal foi de 24 a 48 horas, 3-5 e 7 dias a 4°C.

Camundongos-controles, 2 para cada grupo, foram inoculados com os mesmos inóculos sem o sal. Os animais foram observados diariamente, os mortos ou moribundos tiveram exsudatos ou cérebros retirados e examinados a fresco, quando possível.

Não foram realizados testes sorológicos nos sobreviventes; a infecção foi verificada através de vários exames a fresco do exsudato peritoneal ou do cérebro.

RESULTADOS

Os resultados estão representados nas tabelas I e II.

Verificou-se (Tabela I) que nas concentrações de sal a 2,2%, 2,5% e 3%, com exposições de 24 e 48 horas, todos os camundongos inoculados com exsudato peritoneal (taquizoitas) morreram, menos um (1/28). Na concentração de 3%, com maior tempo de exposição (3-5 e 7 dias), houve perda da infectividade dos parasitas, com sobrevivência de 10 em 37 camundongos (27%) ($\chi^2 = 4,68$ significante ao nível de 5%).

Tabela I
Ação do sal de cozinha sobre taquizoitas de *Toxoplasma gondii*

Sal de cozinha	tempo de exposição	camundongos		
		mortos	sobreviventes	
2,2%-2,5%-3,0%	24-48 h	27/28	1/28	9,5%
	3d	19/22	3/22	13,0%
3,0%	5d	7/10	3/10	30,0%
	7d	1/5	4/5	80,0%
Total		54/65	11/65	16,9%

h = horas d = dias

As mortes ocorreram, sempre, mais tarde do que a dos camundongos-controles. Assim, várias mortes ocorreram aos 19, 27 até 46 dias (ação do sal a 3% durante 7 dias), enquanto os controles morreram entre 7 e 11 dias em 100% dos casos.

Na ação do sal sobre os cistos (Tabela II), à concentração de 3% e com exposições de 24, 48 e 72 horas, a maioria dos 30 camundongos morreu, porém, não houve registro do nº de sobreviventes. Na mesma concentração, com exposição de 5 e 7 dias, houve 17 sobreviventes e 3 mortos, respectivamente 9 em 10 e 8 em 10, significando uma perda de vitalidade de 85% (o nº pequeno não permitiu análise estatística).

Tabela II
Ação do sal de cozinha sobre cistos de *Toxoplasma gondii*

Sal de cozinha	tempo de exposição	camundongos	
		mortos	sobreviventes
24-48-72 h		*/30	*/30
3%	5d	1/10	9/10 90,0%
	7d	2/10	8/10 80,0%
Total		3/20	17/20 85%

h = horas d = dias * sem registro

Também aqui a morte dos camundongos-testes foi mais tardia que a dos controles. Assim, as 3 mortes ocorreram aos 8, 26 e 48 dias, enquanto a dos controles entre 7 e 15 dias, em 100% dos casos.

A recuperação do toxoplasma nos camundongos recém-mortos ou moribundos feita no exsudato peritoneal, a fresco, foi positiva (taquizoitas) até o 13º dia. Nos sobreviventes, foi sempre negativa, quer no exsudato peritoneal, quer no cérebro.

DISCUSSÃO

A ação do NaCl sobre o *Toxoplasma gondii* foi verificada por JACOBS et al. (1961)², WORK (1969)⁹ e JAMRA et al. (1981)³. Entretanto, a do sal de cozinha, que não é, essencialmente, NaCl, mas contém na sua composição outros sais em pequenas proporções, parece ter sido estudada pela

primeira vez, entre nós, por NAVARRO et al. (1988)⁷ e JAMRA et al. (1989)⁴.

Pelos resultados desta pesquisa o sal de cozinha, principalmente na concentração de 3,0% e agindo durante 5 e 7 dias a 4° C, atuou sobre taquizoitas e cistos do toxoplasma, inativando-os e tornando-os não infectantes para camundongos, respectivamente em 46,6% e 85%.

Com tempo de ação menor, 24 e 48 horas, nas diversas concentrações usadas, em 28 camundongos inoculados com taquizoitas mais sal, houve um sobrevivente, que, possivelmente, não foi infectado.

A ação do sal a 3% sobre taquizoitas aumentou com o tempo de exposição: 13%, 30% e 80% de sobreviventes, respectivamente após 3-5 e 7 dias.

Sobre os cistos a ação do sal a 3%, durante 5 e 7 dias foi praticamente igual: 9 e 8 sobreviventes em 10 camundongos inoculados. É possível que já aos 3 dias houvesse sobreviventes, porém, faltaram anotações sobre este grupo.

Observação importante foi a de que as mortes, quer em relação a taquizoitas, quer a cistos, ocorreram, sempre mais tarde do que a dos controles, evidenciando uma certa ação do sal já nos primeiros dias, diminuindo a virulência e retardando a morte.

Foi verificada maior mortalidade entre camundongos inoculados com taquizoitas mais sal em relação à dos inoculados com cistos mais sal, isto porque os taquizoitas, apesar de menos resistentes, são mais infectantes e virulentos do que os cistos e, provavelmente, causam infecção e morte quando não atingidos, ainda, pela ação do sal (antes de 3 dias, segundo nossos resultados).

O significado destes resultados ressalta quando se conhecem os hábitos de certa parte da nossa população, de ingerir carnes cruas, principalmente de porco, sob a forma de embutidos (linguiças, salchichas e salames). E quando se sabe também, que a carne de porco crua ou mal cozida (p.ex. sob forma de churrasco), pode ser causa de transmissão da toxoplasmose adquirida entre os carnívoros

(DUBEY, 1986)¹.

Em embutidos de carne de porco podem concurrer, para maior perda da viabilidade dos toxoplasmas presentes, em excesso de sal e a sua manutenção à temperatura ambiente.

Por outro lado, o hábito de ingerir embutidos frescos, ainda durante o preparo domiciliar (MARTINS, 1989)⁶ pode contribuir para maior risco de infecção por não ter tempo para a ação do sal sobre os toxoplasmas.

CONCLUSÃO

A evidente ação inativante do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*, na concentração de 3,0%, durante um mínimo de 3 dias, pode explicar a raridade do isolamento de parasita nos embutidos de carne de porco salgada do inquérito de Erechim.

SUMMARY

Action of table salt on *Toxoplasma gondii*

Results of our inquiry on *Toxoplasma gondii* frequency in pork sausages from Erechim (RS, Brazil), where the incidence of toxoplasmodic chorioretinitis is high (9% according SILVEIRA, 1987)⁹, revealed only one isolation of the parasite among 40 sausage samples. (MARTINS, 1989)^{5,6}.

The sausages were prepared with pork and common table salt, and were ingested, frequently, in raw state, during its preparation.

In this experiment, table salt action on tachyzoites and cysts of *Toxoplasma gondii*, was investigated.

Albino male mice were intraperitoneally inoculated with 0,5 ml of peritoneal exudates (tachyzoites) or brain macerates (cysts) from previously infected mice. Some strains were isolated from pork and pork sausages from Erechim. Refined common table salt was added to the inocula at 2,2%, 2,5% and 3,0% concentrations, during 24 and 48 hours, 3-5 and 7 days of exposition time, at 4° C.

The results demonstrated that at 2,2%, 2,5%

and 3,0% salt concentrations and 24 and 48 hours of time exposition all mice inoculated with tachyzoites were dead, except one, probably not infected. At 3,0% and 3-5 and 7 days of contact, 10 in 37 inoculated mice survived (27%). Of the mice inoculated with cysts plus salt at 3,0%, at 5 and 7 days exposition, 85% survived (17 in 20).

All the controls mice inoculated with the same inocula without salt, at the same conditions, died earlier than the test mice. The *Toxoplasma* was recovered from peritoneal exsudates and brains of recently dead and dying mice, but not from the survivors.

Conclusion: the table salt has an inactive action on *Toxoplasma gondii* in 3,0% concentration and at 3 to 7 days exposition. Possibly this may explain the rare isolation of the parasite in pork sausages of Erechim inquiry.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DUBEY, J. P. - A review of toxoplasma in pigs. *Vet. Parasit.*, 9: 181-183, 1986.
2. JACOBS, J.; REMINGTON, J. S. & MELTON, W. L. - The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasit.*, 46: 10-21, 1961.
3. JAMRA, L. M. F. & GUIMARÃES, E. C. - Sobrevivência do *Toxoplasma gondii* em condições diversas. Resumos. In: JORNADA CIENTÍFICA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO, 2., São Paulo, 1981. p. 20.
4. JAMRA, L. M. F.; MARTINS, M. C. & VIEIRA, M. P. L. - Ação do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*. Resultados Preliminares. In: JORNADA CIENTÍFICA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO, 3., São Paulo, 1989. Anais. (Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 31 (supl 7): 38, 1989)
5. MARTINS, M. C.; SILVEIRA, C.; JAMRA, L. M. F. & VIEIRA, M. P. L. *Toxoplasma gondii* em carnes e derivados provenientes de Erechim (RS). In: JORNADA CIENTÍFICA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO, 3., São Paulo, 1989. Anais (Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 31 (supl. 7): 38, 1989).
6. MARTINS, M. C. - Isolamento do *Toxoplasma gondii* de carnes e derivados provenientes de região endêmica de toxoplasmose ocular, Erechim (RS). São Paulo, 1989. (Dissertação de mestrado - Escola Paulista de Medicina).
7. NAVARRO, I. T. & VIDOTTO, O. - Estudo da resistência do *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) ao efeito do cloreto de sódio e condimentos em linguiça frescal de suínos. In: ENCONTRO SUL BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS, 2. Anais. 1988.
8. SILVEIRA, C. M. - Retinocoroidite presumidamente toxoplasmática em 6 irmãos não gêmeos. *Arq. bras. Oftal.*, 50: 88-91, 1987.
9. WORK, K. - Resistance of *Toxoplasma gondii* encysted in pork. *Acta path. microbiol. scand.*, 73: 85-92, 1968.

Recebido para publicação em 12/12/1990.
Accepted for publication on 18/07/1991.