

CONTAMINAÇÃO DO SOLO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO PELO CLOSTRIDIUM TETANI. IV — ESTUDO PRELIMINAR DA RELAÇÃO ENTRE A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SOLO E A PRESENÇA DO BACILO

Walter Tavares *, Dejair Lopes de Almeida **, Roched A. Seba *** e José Bonifácio de Oliveira Xavier de Menezes ****

Os autores apresentam os resultados preliminares da relação entre o grau de contaminação pelo C. tetani e a composição química de 82 amostras da camada superficial do solo do Estado do Rio de Janeiro, colhidas ao acaso. Não encontram relação importante entre a presença do bacilo e a concentração de potássio, magnésio, fósforo, alumínio, carbono e o pH do solo. As amostras ricas em cálcio, porém, apresentaram maior positividade. Devido à heterogeneidade das amostras, possibilitando a influência de outros fatores nos resultados, os autores pretendem estudar o assunto em amostras mais selecionadas.

INTRODUÇÃO

O isolamento do *C. tetani* em amostras de terra foi inicialmente conseguido por Nicolaier (11), quando caracterizou o agente etiológico do tétano. Posteriormente, o bacilo foi isolado em diversas regiões da Terra (4; 5; 7; 9; 14; 15; 16; 18), ficando estabelecido, desta forma, que o solo constituiu o principal reservatório do germe.

Em trabalhos realizados anteriormente (16; 17), verificamos que o *C. tetani* é encontrado em alto percentual em amostras de solo do Estado do Rio de Janeiro, sendo isolado em áreas urbanas e rurais. Dando continuidade ao estudo sobre a contami-

nação do solo deste Estado pelo bacilo, procuramos correlacionar sua presença com a composição química do solo. Os resultados preliminares deste estudo constituem esta comunicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Colhemos 82 amostras de solo de diferentes municípios do Estado do Rio de Janeiro e procedemos à análise química e cultura em anaerobiose. As amostras foram coletadas em frascos esterilizados, desde a superfície até uma profundidade de cerca de 5 cm, correspondendo ao horizonte A do solo. Tal camada é a de interesse

Trabalho da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Univ. Fed. Fluminense.

* Professor Assistente da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

*** Engenheiro Agrônomo do Setor de Solos do I. P. E. A. C. S., Minist. Agricult..

**** Diretor Científico do Instituto Vital Brasil.

**** Engenheiro Agrônomo, Pesquisador do Ministério da Agricultura.

Recebido para publicação em 21.1.74.

ao nosso estudo, pois em regra geral as feridas tetanígenas sucedem na superfície do solo. As amostras foram colhidas em diferentes tipos de solo, tais como pastos, lavouras, estradas, jardins, ruas, etc.

A cultura foi realizada no Instituto Vital Brazil, em meio de Tarozzi, semeando-se 0,5 ml de uma suspensão de 5 g da amostra em 10 ml de solução fisiológica de cloreto de sódio. Após 4 dias de cultivo em anaerobiose, determinamos a presença do *C. tetani* pela inoculação de 0,1 ml do sobrenadante das culturas em camundongos pesando 18 a 20 g, observados por 4 dias. Nas amostras que provocaram tétano no animal, procedemos à prova de neutralização, inoculando o material da cultura em novos camundongos protegidos com 500 U. de SAT.

A análise química do solo foi realizada no Instituto de Peso e Experimentação Agro-Pecuária do Centro-Sul do Ministério da Agricultura. Determinamos a concentração de fósforo assimilável; cálcio, alumínio, potássio e magnésio trocável; pH; carbono; e matéria orgânica. A dosagem destes elementos foi realizada pelos métodos de análise do solo da Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo do Ministério, da Agricultura (19).

A avaliação dos níveis críticos dos elementos estudados foi feita de acordo com os utilizados para fins de fertilidade pela Divisão de Pesquisas Pedológicas do Ministério da Agricultura (20) e pelo Instituto Agrônomo de Campinas (2). Para fins deste trabalho, utilizamos os seguintes critérios de interpretação da análise dos solos:

a) pH	—	≡ 6,5 ácido	
		6,6	↑ 7,4 neutro
			≡ 7,4 alcalino
b) Fósforo (P)	—	≡ 10 ppm (mg/kg)	— baixo
		≡ 11 ppm (mg/kg)	— alto
c) Potássio (K)	—	≡ 45 ppm (mg/kg)	— baixo
		≡ 46 ppm (mg/kg)	— alto
d) Cálcio (Ca)	—	< 2 mEq %	— baixo
		≡ 2 mEq %	— alto
e) Magnésio (Mg)	—	< 0,5 mEq %	— baixo
		≡ 0,5 mEq %	— alto
f) Alumínio (Al)	—	< 0,3 mEq %	— baixo
		≡ 0,3 mEq %	— alto
g) Carbono (C)	—	≡ 1 g %	— pobre
		> 1 g %	— bom (alto)

O nível crítico de carbono é de difícil avaliação, pois a interpretação de tal elemento é variável, considerado seu nível entre 0,8 g % (2) e 1,5 g % (20). Para fins deste trabalho consideramos o seu nível crítico em 1 g %, de acordo com os valores atribuídos para a matéria orgânica (6), tendo em vista que 1 g % de carbono corresponde a 1,7 g % de matéria orgânica (10).

A determinação dos níveis de cálcio e magnésio foi realizado em 63 amostras; a dos demais elementos, no total de amostras colhidas.

RESULTADOS

Verificamos a presença do *C. tetani* em 24 das amostras examinadas (29,2%). Nas tabelas I e II apresentamos os resultados

da análise química do solo nas amostras com positividade e negatividade para o bacilo tetânico. Nas tabelas III a IX relacionamos a presença ou não do germe com os limites críticos dos elementos analisados. Os valores obtidos com o carbono representam, a grosso modo, a riqueza em matéria orgânica.

Observa-se que a maioria das amostras de solo mostrou-se pobre em fósforo, alumínio e carbono, e rica em potássio e magnésio, havendo equilíbrio na riqueza em cálcio. O pH mostrou-se ácido em 57 das 82 amostras analisadas.

COMENTÁRIOS

Pertence ao passado a discussão acerca da origem telúrica ou fecal do bacilo tetânico. A sua capacidade de sobreviver em

Tabela I

Análise Química do Solo com Positividade para *C. tetani*

Amostra	Potásio	Fósforo	Cálcio	Mag- nésio	Alumí- nio	Car- bono	Maté- ria orgâ- nica	pH
	ppm	ppm	mEq %	mEq %	mEq %	g %	g %	
1	120,0	11,0	7,5	1,3	0,0	2,42	4,17	7,1
2	100,0	6,0	2,0	1,2	0,4	1,16	2,00	5,4
3	56,0	0,0	0,3	1,3	0,4	0,45	0,77	5,3
4	56,0	26,0	0,6	0,5	0,2	0,43	0,74	5,3
5	154,0	2,0	2,4	1,5	0,0	0,41	0,71	6,5
6	112,0	4,0	1,3	1,7	0,0	0,29	0,50	6,4
7	156,0	13,0	5,6	1,9	0,0	1,01	1,74	7,3
8	132,0	3,0	3,5	1,4	0,0	0,36	0,62	7,3
9	120,0	2,0	1,8	2,1	0,0	0,46	0,79	6,1
10	72,0	2,0	2,0	1,2	0,0	0,51	0,88	6,3
11	200,0	10,0	4,3	2,9	0,0	3,20	5,52	6,7
12	200,0	21,0	3,3	1,3	0,0	0,77	1,33	6,4
13	180,0	2,0	4,3	1,7	0,0	0,97	1,67	6,2
14	104,0	0,0	2,4	1,4	0,1	1,39	2,44	5,7
15	172,0	5,0	1,7	1,3	0,3	1,51	2,60	5,6
16	148,0	1,0	1,5	1,6	0,6	2,05	3,53	5,5
17	136,0	50,0	8,2	1,2	0,0	1,68	2,90	7,3
18	200,0	50,0	6,0	1,7	0,0	1,24	2,14	6,8
19	152,0	5,0	2,8	0,5	0,0	0,12	0,21	7,8
20	136,0	50,0	9,8	0,8	0,0	2,17	3,74	7,5
21	152,0	50,0	5,8	1,2	0,0	1,34	2,31	7,1
22	68,0	0,0	—	—	0,1	0,94	1,61	5,4
23	44,0	45,0	—	—	0,0	0,39	0,67	8,1
24	200,0	45,0	—	—	0,0	2,11	3,64	7,8

condições adversas sob a forma de esporo, de grande resistência a vários agentes físicos e químicos, faz com que seja encontrado nos mais diversos terrenos, desde o solo. água. vegetais, até o intestino ou pele de animais (13). O solo representa, sem dúvida, o principal reservatório do germe, tendo em vista a sua frequente presença, bem como o íntimo contato do homem, possibilitando sua infecção ao sofrer traumatismos. As diversas estatísticas mostrando serem os traumatismos de natureza variada o principal foco de infecção do tétano, reforçam esta assertiva.

Diversos trabalhos (1; 3; 8; 16; 21) têm mostrado que a distribuição geográfica do tétano não é uniforme dentro de um mesmo país. Dentre os fatores responsáveis por tal fato, a distribuição desigual do *Clostridium tetani* no solo merece especial destaque, visto que existe relação direta entre o grau de contaminação do solo e a morbidade da doença (9; 13; 15; 16).

A distribuição irregular do *C. tetani* no solo tem sido atribuída a diversos fatores: — disseminação dos esporos por herbívoros; adubação dos solos para cultivo; riqueza em matéria orgânica; redução da toxigenicidade do germe pela presença de outros aeróbios e anaeróbios; condições climáticas desfavoráveis à vida microbiana em regiões de elevada altitude; ação das chuvas condicionando anaerobiose do solo; associação com outros germes que consomem oxigênio, permitindo o seu desenvolvimento; constituição química do solo (1; 12; 13; 15; 21). Algumas destas teorias explicativas do fenômeno têm se tornado pouco prováveis, pois o bacilo tetânico tem sido isolado tanto em terras de cultura como de florestas; tanto em pastos como em cidades; em associação com os mais diversos tipos de germes (4; 5; 13; 17). É observada no entanto, sua menor freqüência em zonas rurais e é referida maior riqueza bacilar nos solos argilosos e ricos em cálcio (13; 15; 17; 21).

Tabela II

Análise Química do Solo com Negatividade para *C. tetani*

Amostra	Potássio	Fósforo	Cálcio	Mag- nésio	Alu- minio	Car- bono	Maté- ria orgâ- nica	pH
	ppm	ppm	mEq %	mEq %	mEq %	g %	g %	
1	88,0	9,0	2,5	1,0	0,0	0,49	0,84	6,2
2	88,0	3,0	1,2	0,6	0,1	1,02	1,76	5,7
3	80,0	0,0	1,6	0,9	0,0	0,63	2,81	6,0
4	124,0	3,0	1,8	0,6	0,0	0,54	0,93	6,6
5	108,0	12,0	1,6	1,0	0,5	1,30	2,24	5,9
6	192,0	3,0	2,4	1,5	0,1	1,57	2,71	5,9
7	140,0	4,0	3,1	1,7	0,0	1,57	2,71	5,9
8	72,0	0,0	0,6	0,7	0,2	0,78	1,34	5,4
9	60,0	14,0	1,4	0,9	0,0	0,65	1,12	6,4
10	56,0	18,0	1,5	0,9	0,1	1,03	1,77	5,7
11	60,0	0,0	0,4	0,7	1,4	0,73	1,26	5,2
12	60,0	0,0	0,6	1,2	0,6	1,50	2,60	5,3
13	144,0	1,0	2,9	0,9	0,0	1,64	2,83	6,5
14	72,0	9,0	0,6	1,0	0,1	0,66	1,38	5,5
15	96,0	2,0	1,9	2,6	0,0	0,67	1,15	5,9
16	84,0	0,0	2,3	1,7	0,0	0,09	0,15	6,1
17	100,0	10,0	1,7	1,4	0,0	0,65	1,12	6,0
18	120,0	0,0	4,6	0,8	0,0	0,83	1,43	7,2
19	64,0	2,0	3,7	0,4	0,0	0,38	0,65	7,1
20	100,0	1,0	2,3	2,4	0,0	0,93	1,60	5,9
21	80,0	2,0	1,2	1,7	0,3	0,63	1,09	5,0
22	200,0	3,0	3,5	2,1	0,0	0,56	0,96	6,4
23	156,0	14,0	0,9	1,3	0,0	0,45	0,77	6,0
24	156,0	50,0	3,6	2,0	0,0	1,25	2,15	6,3
25	200,0	4,0	3,3	2,4	0,0	0,92	1,59	7,0
26	60,0	14,0	3,0	4,7	0,0	0,39	0,67	6,9
27	84,0	0,0	1,0	2,0	0,0	0,25	0,43	6,5
28	64,0	3,0	1,3	0,5	0,0	0,24	0,41	7,3
29	84,0	0,0	2,5	4,2	0,0	0,46	0,79	6,9
30	80,0	2,0	2,0	2,1	0,0	0,95	1,64	6,2
31	200,0	3,0	7,0	2,7	0,0	2,08	3,58	6,5
32	136,0	1,0	1,4	1,5	0,3	1,36	2,34	5,4
33	48,0	0,0	0,8	0,7	0,2	0,66	1,14	5,5
34	36,0	0,0	0,7	0,8	0,2	0,70	1,21	5,5
35	56,0	0,0	0,6	0,7	1,0	1,68	2,90	5,0
36	100,0	1,0	0,7	1,0	0,4	1,36	2,34	5,3
37	76,0	0,0	0,7	0,9	0,2	0,74	1,27	5,7
38	88,0	0,0	1,8	1,2	0,0	1,24	2,14	6,2
39	124,0	0,0	3,6	1,6	0,0	0,87	1,50	6,2
40	36,0	2,0	6,2	0,4	0,0	0,35	0,60	8,0
41	72,0	6,0	4,6	1,5	0,0	1,43	2,46	7,3
42	60,0	1,0	0,2	0,6	1,4	1,04	1,80	5,0
43	32,0	50,0	—	—	0,8	0,52	0,90	4,6
44	200,0	1,0	—	—	0,0	0,99	1,71	6,3
45	132,0	5,0	—	—	0,0	0,05	0,98	8,2
46	116,0	4,0	—	—	0,0	0,70	1,20	5,6
47	200,0	13,0	—	—	0,0	1,19	2,06	6,6
48	36,0	2,0	—	—	0,1	0,44	0,76	5,8
49	108,0	13,0	—	—	0,0	1,95	3,36	6,0
50	84,0	1,0	—	—	0,1	0,83	1,43	5,6
51	32,0	1,0	—	—	0,3	0,50	0,87	5,2
52	48,0	1,0	—	—	0,2	1,19	2,05	5,4
53	46,0	6,0	—	—	0,1	0,57	0,98	5,2
54	44,0	2,0	—	—	0,1	0,94	1,62	5,1
55	44,0	5,0	—	—	0,0	0,48	0,83	6,1
56	36,0	1,0	—	—	1,1	1,92	3,31	4,7
57	140,0	6,0	—	—	0,0	0,74	1,27	6,3
58	92,0	0,0	—	—	0,0	0,99	1,71	5,8

Tabela III

Relação entre a presença do *C. tetani* e o nível de fósforo

C. tetani Fósforo	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Alto	10 (41,7%)	9 (15,5%)	19
Baixo	14 (58,3%)	49 (84,5%)	63
Total	24 (100%)	58 (100%)	82

Tabela IV

Relação entre a presença de *C. tetani* e o nível de potássio

C. tetani Potássio	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Alto	23 (95,9%)	50 (86,3%)	73
Baixo	1 (4,1%)	8 (13,7%)	9
Total	24 (100%)	58 (100%)	82

Tabela V

Relação entre a presença de *C. tetani* e o nível de cálcio

C. tetani Cálcio	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Alto	15 (70,5%)	18 (42,9%)	33
Baixo	6 (29,5%)	24 (57,1%)	30
Total	21 (100%)	42 (100%)	63

Tabela VI

Relação entre a presença de *C. tetani* e o nível de magnésio

C. tetani Magnésio	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Alto	21 (100%)	40 (95,2%)	61
Baixo	0	2 (4,8%)	2
Total	21 (100%)	42 (100%)	63

Tabela VII

Relação entre a presença de *C. tetani* e o nível de alumínio

C. tetani Alumínio	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Alto	4 (16,6%)	11 (18,9%)	15
Baixo	20 (83,4%)	47 (81,1%)	67
Total	24 (100%)	58 (100%)	82

Tabela VIII

Relação entre a presença de *C. tetani* e o nível de carbono

C. tetani Carbono	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Alto	12 (50%)	20 (34,4%)	32
Baixo	12 (50%)	38 (65,6%)	50
Total	24 (100%)	58 (100%)	82

Tabela IX

Relação entre a presença de *C. tetani* e o pH do solo

C. tetani pH	Nº amostras positivas	Nº amostras negativas	Total
Ácido	10 (41,6%)	47 (81,1%)	57
Neutro	10 (41,6%)	9 (15,5%)	19
Alcalino	4 (16,8%)	2 (3,4%)	6
Total	24 (100%)	58 (100%)	82

Neste trabalho apresentamos os resultados iniciais da relação entre a presença do bacilo tetânico e a de alguns elementos químicos no solo. Chama a atenção que nenhum dos elementos, analisados isoladamente, pareceu ter influência fundamental na positividade ou negatividade das amostras. O bacilo esteve presente ou ausente tanto nas amostras ricas ou pobres em fósforo, potássio, cálcio, magnésio, alumínio e carbono, bem como em solos de natureza ácida, alcalina ou neutra. O único elemento que mostrou uma relação mais estreita com a presença do germe foi o cálcio, pois na maioria das amostras positivas

seu nível foi elevado, ocorrendo o inverso nas amostras negativas. É de se notar que a riqueza em carbono (e conseqüentemente de matéria orgânica) não pareceu influenciar no grau de contaminação bacilar.

Torna-se difícil tirar outras conclusões do trabalho empreendido, tendo em vista que as amostras foram coletadas em áreas diferentes do Estado do Rio de Janeiro, com altitudes e tipos de solo variáveis, o que pode ter influenciado nos resultados. Pretendemos dar continuidade a este estudo, com análise de amostras mais selecionadas.

SUMMARY

The authors made a initial study about the relationship between the soil contamination by *C. tetani* and the chemical composition of 82 soil samples from the Estado do Rio de Janeiro (Brazil). *C. tetani* was found in 29.2 % of the samples. No relationship could be demonstrated between the presence of the bacillus and the amount of potassium, magnesium, phosphorus, aluminium and carbon (organic material), as well as the pH of the soil. The microbe was or was not found either in rich soils or in poor ones, as well as in acid, neutral or basic soils. It was found a correlation between the amount of calcium and the positivity of the bacillus. Since many factors may have influenced the results, the authors will study this subject more deeply.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERNARD-GRIFFITHS, C. & GROS-LIER, M. Les terrains tetanigènes dans le Puy - de - Dome. *Concours Med* 74: 4156, 1952.
2. CATANI, R.A.; GALLO, J.R. & GARGANTINI, H. *Amostragem de solo, métodos de análise, interpretação e indicações para fertilidade*. Campinas, Instituto Agrônômico. Boletim 63, 1955. 29 p.
3. CHAVANAZ, J. Les zones tetanigènes em France. *Mem. Acad. Chir.* 79: 46. 1953.
4. DAMON, S.R. & PAYABALL, L. Distribution of the spores of bacillus botulinus and bacillus tetani in the soil. *J. Inf. Dis.* 39: 491, 1926.
5. DUBOVSKY, B. & MEYER, K.F. The occurrence of *B. tetani* in soil and vegetables. *J. Inf. Dis.* 31: 614, 1922.
6. GEOTESTIS — PROCESSO RÁPIDO DE ANÁLISE DO SOLO. Importadora Agro-Pecuária. São Paulo, 1951.
7. GILLES, E.C. The isolation of tetanus bacilli from street dust. *JAMA* 109: 484, 1937.
8. KUBINY, I.; RUDNAI, O. & BARSY, G. An epidemiological analysis of tetanus vaccination in Hungary. *Acta Microb. Acad. Sci. Hung.* 9: 133, 1962.
9. LAVERGNE, V.; HELLUY, J. & FAIVRE, G. Contribution a l'étude morphologique et biologique de *C. tetani*. *Rev. Immunol.* 13: 315, 1949.
10. MONIZ, A.C. Elementos de pedologia, coordenado por A.C. Moniz; autores, H.P. Medina e outros. São Paulo, Polígono, Ed. Univ. S. Paulo, 1972, 459 p. II.
11. NICOLAIER, A. Ueber infectiosen tetanus. *Dtsch. Med. Wschr.* 10: 842, 1884.
12. NOBLE, W. Experimental study of the distribution and habitat of the tetanus bacillus. *J. Inf. Dis.* 16: 132, 1915.
13. PREVOT, A.R.; TURPIN, A. & KAISER, P. *Les Bacteries Anaerobies*. Paris, Dunod, 1967.
14. SANADA, I. & NISHIDA, S. Isolation of *tetani* from soil. *J. Bact.* 89: 626. 1965.
15. SERGEEVA, T.I. & MATVEEV, K.I. Tétano e sua profilaxia em tempo de paz. *J. Hyg. Epid. Microb. Imm.* 10: 133, 1966 (tradução *Folha Atual. Saúde de Públ.* DNERu nº 9, setb. 1967).
16. TAVARES, W. & SEBA, R.A. Contaminação do solo do Estado do Rio de Janeiro pelo *C. tetani*. I — Relação com a distribuição geográfica do tétano. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 4: 331, 1970.
17. TAVARES, W.; SEBA, R.A. & COURA, J.R. Contaminação do solo do Estado do Rio de Janeiro pelo *C. tetani*. III — Estudo da contaminação de áreas urbanas e rurais. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 13: 411, 1971.
18. VAHORA, G.Y.; SELWYN, S. & MODI, V.V. Studies of tetanus bacilli from the Hospital environment and other sources in Baroda. *Indian J. Path Bact* 11: 85, 1968.
19. VETTORI, L. *Métodos de análise do solo*. Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo. Boletim Técnico nº 7, 1969. Ministério da Agricultura, Brasil.
20. VETTORI, L. Divisão de Pesquisa Pedológica, Ministério da Agricultura — Informação pessoal.
21. YOUNG, M. Tetanus. IV — The geographical incidence of tetanus in England and Wales. *Brit. J. Exp. Path* 8: 226, 1927.