

B

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Nilson Branco

**Avaliação da Presença de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia*
spp. em Águas Minerais Naturais de Nascentes e
Enteroparasitoses em duas Comunidades Rurais da
Cidade de Campos do Jordão, S P, Brasil**

Orientadora: Profa. Dra. Regina Maura Bueno Franco

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Nilson Branco
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Mestre em Parasitologia.

CAMPINAS, SP

2006

**BIBLIOTECA CENTRAL
DESENVOLVIMENTO
COLEÇÃO
UNICAMP**

UNIDADE	BC
NO CHAMADA	T/ UNICAMP
	B732a
V	EX
TOMBO, BCI	70081
PROC.	16.103.06
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11.00
DATA	25-9-06

818 10 397360

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

B732a Branco, Nilson
Avaliação da presença de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em águas minerais naturais de nascentes e enteroparasitoses em duas comunidades rurais na cidade de Campos do Jordão, S.P., Brasil / Nilson Branco. -- Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientadora: Regina Maura Bueno Franco.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. *Cryptosporidium*. 2. *Giardia*. 3. Águas minerais. 4. Nascentes. 5. Doenças parasitárias I. Franco, Regina Maura Bueno. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Título em inglês: Evaluation of the presence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in natural mineral waters from springs and enteroparasitosis in two rural communities in the city of Campos do Jordão, S.P., Brazil.

Palavras-chave em inglês: *Cryptosporidium*; *Giardia*; Mineral waters; Springs; Parasitic diseases.

Área de concentração: Parasitologia.

Titulação: Mestre em Parasitologia.

Banca examinadora: Regina Maura Bueno Franco, Maria Inês Zanoli Sato, Ana Maria Aparecida Guaraldo.

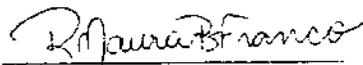
Data da defesa: 17/07/2006.

Campinas, 17 de Julho de 2006.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra.

Regina Maura Bueno Franco (Orientadora)


Assinatura

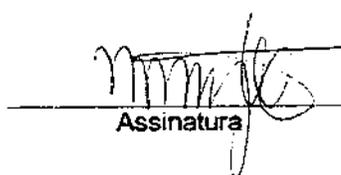
Profa. Dra.

Marlene Tiduko Ueta

Assinatura

Profa. Dra.

Maria Inês Zanoli Sato


Assinatura

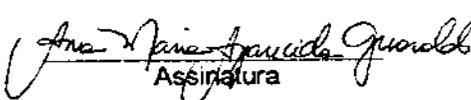
Prof. Dr.

Fábio Trindade Maranhão Costa

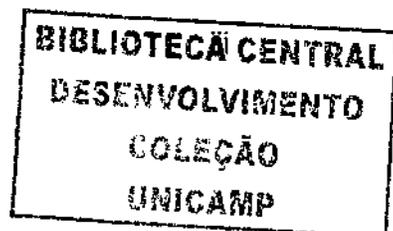
Assinatura

Profa Dra.

Ana Maria Aparecida Guaraldo


Assinatura

060502934



Dedico esta obra a minha querida filha
Letícia Vasconcelos Branco.

AGRADECIMENTOS

A realização desta pesquisa foi possível graças à colaboração, apoio e incentivo de todas as pessoas e instituições a quem devo meus agradecimentos:

Profa. Dra. Regina Maura Bueno Franco.

Aos colegas do laboratório de Protozoologia, Luciana, Mirna, Paula, Rita, Tais, Diego e Romeu.

Ao Sr. José Luis Llanos Carrillo, pela análise estatística.

A todos os professores e funcionários do departamento de Parasitologia.

A subcomissão do Curso de Pós-graduação em Parasitologia.

Ao Instituto de Biologia da UNICAMP

A Prefeitura Municipal de Campos do Jordão, em especial ao então secretário do Meio Ambiente o Sr. Alexandre Gonçalves da Silva, e a Sra. Elaine Pellacani.

A todos os moradores dos bairros Vila Campista e Vila dos Mellos que participaram do inquérito parasitológico fecal.

Em especial, à Claudete Vasconcelos, minha esposa, amiga e companheira que sempre esteve presente, e que sua presença foi fundamental durante cada etapa da realização deste trabalho.

RESUMO

A presença de espécies dos protozoários *Cryptosporidium* e de *Giardia* em água, principalmente as destinadas ao consumo humano, assumiu nos últimos 22 anos grande importância em Saúde Pública devido à veiculação hídrica de suas formas infectantes. Esses protozoários causam gastroenterites no ser humano e em diversas espécies animais. A transmissão desses protozoários ocorre pela via fecal-oral mediante a ingestão de água ou de alimentos contaminados, ou pelo contato direto (pessoa-a-pessoa ou animal-pessoa; transmissão zoonótica). A persistência de oocistos e cistos no ambiente e a grande resistência aos processos de desinfecção contribuem com a veiculação hídrica desses protozoários. Numerosos surtos de gastroenterite aconteceram nos últimos 25 anos devido à ingestão de água de consumo e involuntariamente águas recreacionais contaminadas. No Brasil é crescente a degradação de águas superficiais e subterrâneas devido à deficiência de infra-estrutura no sistema de esgotamento sanitário. Análises realizadas pela Sabesp sobre a qualidade microbiológica da água proveniente das fontes naturais da cidade de Campos do Jordão (nordeste do estado de São Paulo) revelam que 13, de um total de 22 fontes, apresentaram padrão de qualidade impróprio para o consumo humano. Considerando que a população local utiliza amplamente essa água para o consumo (ingestão e preparo de alimentos) e que a existência de situações que implicam em risco potencial de contaminação das mesmas são frequentes no município, o objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de *Cryptosporidium* sp. e de *Giardia* sp. em amostras procedentes das principais fontes, durante 12 meses. Para tanto, utilizou-se a técnica de filtração em membranas para concentração e visualização dos protozoários aplicando anticorpos monoclonais fluorescentes. No período compreendido entre junho de 2003 e maio de 2004, foi possível detectar a presença de, pelo menos, um dos protozoários patogênicos em 25,0% (3/12) das fontes estudadas, com concentrações que variaram de 0,2 a 0,3 oocistos de *Cryptosporidium* sp. e 0,07 a 0,1 cistos de *Giardia* sp. por litro. Considerando a localização das fontes, o índice de positividade para aquelas pertencentes à área urbana foi de 33,3% (2/6) enquanto para as da área rural foi

de 16,7% (1/6). O inquérito parasitológico realizado em duas comunidades rurais pertencentes ao município revelou que 49,2% (91/185) das pessoas apresentavam parasitoses intestinais. A faixa etária dos participantes variou de 0 a 72 anos. As prevalências dos protozoários patogênicos foram: *Cryptosporidium* sp. (8,1%), *Giardia duodenalis* (5,9%), *Blastocystis hominis* (4,9%) e *Entamoeba histolytica/dispar* (2,7%); e dos não patogênicos: *Entamoeba coli* (19,5%), *Iodamoeba bütschlii* (4,3%) e *Endolimax nana* (0,5%). E para os helmintos intestinais foram: *Ascaris lumbricoides* (14,9%); *Trichuris trichiura* (9,7%); ancilostomídeo (1,1%), *Taenia* sp. (1,1%), *Enterobius vermicularis* (1,1%) e larva de nematódeo (1,1%). As diferenças estatísticas não foram significantes para as parasitoses observadas quanto ao sexo ($p=0,453$) e as diferentes faixas etárias ($p=0,213$). As condições ambientais (relevo, disponibilidade hídrica, ocupação desordenada, áreas de pastagem) e focos de contaminação (esgoto sanitário; fezes de animais) existentes próximo às nascentes foram fatores que contribuíram para a contaminação das águas. A ausência de água tratada, de sistema de escoamento sanitário e as condições sócio-econômicas das comunidades rurais incluídas no inquérito parasitológico podem ter contribuído para a elevada prevalência das parasitoses intestinais.

Palavras-chave: *Cryptosporidium*, *Giardia*, Água mineral, Nascentes, Doenças Parasitárias.

ABSTRACT

The presence of protozoan parasites *Cryptosporidium* and *Giardia* mainly in water destined to the human consumption, assumed in the last 22 years, a great importance in Public Health due to the water transmission of its infectant forms. These protozoa cause gastroenteritis in human and in many animal species. The transmission of these parasites occurs by oral-fecal route, consumption of contaminated water or food or by the direct contact (person to person, animal to person or zoonotic transmission). The persistence of oocysts and cysts in the environment and its resistance to the conventional process of disinfection contribute to the waterborne transmission of these protozoa. Numerous outbreaks of gastroenteritis occurred in the last 25 years due to the consumption water and involuntarily recreational waters contaminated. In Brazil, the degradation of subterranean and superficial waters is growing due to the deficiency of infrastructure in the sanitary system. Analyses carried out by the Sabesp about the microbiological quality of the water originating from the natural springs of the city of Campos do Jordão (northeast of the state of São Paulo) revealed that 13, out of a total of 22 springs, presented standard of quality unfit for the human consumption. Considering that the local population uses broadly that water for consumption (drinking and food preparation) and that the existence of situations that potentially imply risk of contamination is frequent in the town, the purpose of this research was to investigate the occurrence of *Cryptosporidium* sp. and *Giardia* sp. in samples originated in the main springs, during 12 months. For this, it was used membrane filtration technique and fluorescent monoclonal antibodies for visualization of cysts and oocysts. From June 2003 to May 2004, it was possible to detect the presence of, at least, one of the pathogenic protozoan in 25% (3/12) of the studied springs, with concentrations that varied from 0,2 to 0,3 oocyst of *Cryptosporidium* sp. and 0,07 to 0,1 cyst of *Giardia* sp. per liter. Considering the location of the springs, the index of positivity for those belonging to the urban area was of 33,3% (2/6) while the ones from rural area was of 16,7% (1/6). The parasitological inquiry carried out in two rural communities of this town revealed

that 49,2% (91/185) of the people presented intestinal parasitosis. The age group of the participants varied from 0 to 72 years. The prevalence rates of the pathogenic protozoan were: *Cryptosporidium* sp. (8,1%), *Giardia duodenalis* (5,9%), *Blastocystis hominis* (4,9%) and *E. histolytica/dispar* (2,7%); and the non pathogenic: *Entamoeba coli* (19,5%), *Iodamoeba bütschlii* (4,3%) and *Endolimax nana* (0,5%); and, for the intestinal helminths were: *Ascaris lumbricoides* (14,9%); *Trichuris trichiura* (9,7%); ancilostomídeo (1,1%), *Taenia* sp. (1,1%), *Enterobius vermicularis* (1,1%) and nemathode larvae of (1,1%). The statistical differences were not significant for the parasitosis observed as regards the sex ($p=0,453$) and the different age groups ($p=0,213$). The existing environmental conditions (prominence, water availability, disorderly occupation, areas of pasture) and contamination near the water collection point (presence of sanitary sewer and their location in pasture areas) provided the contamination of the arising from waters of the natural springs.

Key Words: *Cryptosporidium*, *Giardia*, Mineral water, Springs, Parasitic Disease.

Lista de Figuras	pg
Figura 1: Localização geográfica dos municípios de Campos do Jordão, Campinas e São Paulo (capital).....	31
Figura 2: Localização dos pontos de coleta de água no município de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil (2003 - 2004).....	32
Figura 3: Fontes 1, 3 e 6 da área urbana de Campos do Jordão, SP, Brasil.....	33
Figura 4: Fontes 4, 5 e 7 da área urbana de Campos do Jordão, SP, Brasil.....	33
Figura 5: Reservatórios das fontes 2, 8, 9 e 10 da área rural de Campos do Jordão, SP, Brasil.....	34
Figura 6: Fontes 11 e 12 da área rural de Campos do Jordão, SP, Brasil.....	35
Figura 7: Sistema utilizado para filtração das diversas amostras de água: bomba de vácuo e porta filtro.....	37
Figura 8: Aspecto das Membranas utilizadas filtração: (a) antes e (b) após o processo de filtração, raspagem e eluição das amostras de água.....	38
Figura 9: Ponto de captação Fonte nº 07 de água em área de pastagem com fezes de animal.....	97
Figura 10: Esgoto lançado <i>in natura</i> na rua próxima a Fonte nº 01.	97
Figura 11: Fezes humanas sobre o ponto de captação (a); caixa de passagem localizada na calçada (b), Fonte nº 07.....	98
Figura 12: Fonte de água natural na encosta do morro (Fonte nº01).....	98
Figura 13: Fonte utilizada após ser interditada pela prefeitura (Fonte nº06).....	98
Figura 14: Ponto de captação localizada em uma gruta no interior da mata (Fonte nº 02).....	99
Figura 15: Fonte nº 10; (a) reservatório de água; (b) animais pastando.....	99
Figura 16: Oocisto de <i>Cryptosporidium</i> sp visualizado pela RID na amostra positiva da Fonte 1 (400X).....	50
Figura 17: Cisto de <i>Giardia</i> sp visualizado pela RID na amostra positiva da Fonte 7 (400X)..	50
Figura 18: Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp e cisto de <i>Giardia</i> sp (amostra controle-positivo): a- RID; b- contraste de fase (aumento de 600X).....	54
Figura 19: Número de pessoas que participaram do inquérito parasitológico em relação às respectivas faixas etárias.....	55
Figura 20: Prevalência das diferentes espécies de protozoários intestinais observadas após	X

exame parasitológico de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil.....	58
Figura 21: Prevalência das diferentes espécies de helmintos intestinais observadas após exames parasitológicos de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil. (2004).....	58
Figura 22: Prevalência do parasitismo observado nas pessoas de diferentes faixas etárias da população estudada (n=185) residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).....	59
Figura 23: Prevalência das diferentes espécies de protozoários intestinais observadas dentro das diferentes faixas etárias após exames parasitológicos de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).....	60
Figura 24: Prevalência das diferentes espécies de helmintos intestinais observadas dentro das diferentes faixas etárias após exames parasitológicos de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).....	60

Lista de Tabelas

pg

Tabela 1: Volumes efetivamente filtrados e dos sedimentos obtidos após o processamento laboratorial das amostras de água coihidas em 12 fontes naturais em Campos do Jordão, SP. (Junho de 2003 a maio de 2004).....	48
Tabela 2: Ocorrência de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> sp. e de cistos de <i>Giardia</i> sp. em amostras de água (n=6) colhidas bimestralmente, de 12 fontes naturais em Campos do Jordão, SP. (Junho de 2003 a Maio de 2004).....	49
Tabela 3: Valores médios e variação dos parâmetros (vazão, temperatura e pH da água) registrados durante as coletas e processamento laboratorial das diversas amostras de água provenientes de 12 fontes naturais de Campos do Jordão, SP. (Junho de 2003 a Maio de 2004).....	51
Tabela 4: Dados Climáticos* (Precipitação hídrica e temperatura do ar) registrados 48 e 24 horas antes da coleta e nos respectivos dias de coleta de água em fontes naturais de Campos do Jordão, S P. (Junho de 2003 a Maio de 2004).....	52
Tabela 5: Condições dos experimentos controles positivo (número de (oo)cistos inoculados/L; número de oocistos esperados e efetivamente visualizados em alíquotas de 5µl) e eficiência de recuperação da metodologia utilizada (filtração em membranas).....	53

SUMÁRIO

Resumo.....	vi
Abstract.....	viii
Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xii
1 - Introdução.....	01
2 – Revisão de Literatura.....	08
2.1 – Gênero <i>Cryptosporidium</i>	08
2.2 – Gênero <i>Giardia</i>	15
2.3 – Águas subterrâneas.....	18
2.4 – Ocorrência dos Protozoários <i>Cryptosporidium</i> sp. e de <i>Giardia</i> sp. no Brasil.....	24
2.5 - Métodos de Detecção dos Protozoários <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia</i> sp. em Amostras Hídricas.....	26
2.6 – Água Mineral Natural em Campos do Jordão.....	28
3 – Objetivo Geral.....	29
3.1 – Objetivos Específicos.....	29
4 – Material e Métodos.....	30
4.1 – Local de Coleta.....	30
4.2 – Critério de escolha das fontes para inclusão no estudo.....	31
4.2.1 Características das Fontes escolhidas.....	33
4.2.2 - Fontes da área urbana.....	33
4.2.3 – Fontes da área rural.....	34
4.3 – Colheita das Amostras de água.....	36
4.4 – Exame parasitológico das amostras de água.....	37
4.4.1 - Filtração das Amostras.....	37
4.4.2 – Procedimento de Eluição.....	38
4.4.3 – Enumeração e visualização dos protozoários.....	39
4.4.3.1 - Quantificação dos oocistos ou cistos na amostra.....	41
4.5 – Experimentos Controle Positivo.....	41
4.6 – Experimentos Controle Negativo.....	42
4.7 – Controle de Qualidade da RID.....	43

4.8 – Determinação de outros parâmetros (temperatura, pH e vazão das fontes naturais) e dados climáticos (precipitação hídrica e temperatura do ar)	43
4.9 – Inquérito parasitológico.....	44
4.10 – Análise dos Dados.....	46
5 – Resultados.....	47
5.1- Amostras de água colhidas.....	47
5.2 – EXAME PARASITOLÓGICO DAS AMOSTRAS ÁGUA.....	48
5.3 – Registro de outros parâmetros (temperatura, pH e vazão de água) das fontes naturais e dados climáticos.....	51
5.4 - Experimentos Controle.....	53
5.4.1 – Controle Positivo.....	53
5.4.2 – Controle negativo.....	53
5.4.3 – Controle de qualidade da RID.....	53
5.5 – Inquérito Parasitológico.....	54
5.5.1 – Descrição da população em estudo.....	54
5.5.2 – Estudo da prevalência das parasitoses.....	57
6 – Discussão.....	61
6.1 - <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia</i> sp. na água subterrânea.....	61
6.2 - Parasitoses Intestinais em moradores das áreas rurais.....	71
7 – Conclusões.....	77
8 – Referências.....	79
9 – Anexos.....	92
9.1 – Anexo I - Questionário - INQUÉRITO PARASITOLÓGICO.....	92
9.2 – Anexo II - Termo de Consentimento.....	93
9.3 – Anexo III - Sugestões para a manutenção dos poços e reservatórios referentes à captação de água das fontes de Campos do Jordão.....	94
9.4 – Anexo IV.....	97
9.4.1 – Figuras.....	97

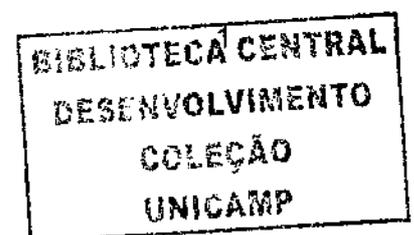
1- INTRODUÇÃO

A presença de espécies de protozoários do gênero *Cryptosporidium* e do gênero *Giardia* em água, principalmente as destinadas ao consumo humano, assumiu nos últimos 22 anos um papel de extrema importância em Saúde Pública em função da capacidade de veiculação hídrica das formas infectantes (oocistos e cistos, respectivamente) desses parasitos (ROSE,1997). A criptosporidiose e a giardiose são doenças que causam gastroenterite no homem e em várias espécies de animais, com severidade variável (FAYER et al., 2000).

O gênero *Cryptosporidium* descrito por Tyzzer em 1907, agrupa espécies de protozoários intestinais que parasitam animais vertebrados com caráter zoonótico e uma espécie, *Cryptosporidium hominis*, capaz de infectar somente o homem, em condições naturais (MORGAN-RYAN et al., 2002).

No caso da criptosporidiose, o estado imunológico do hospedeiro exerce um papel fundamental na definição do quadro clínico: a infecção é usualmente de curta duração nos indivíduos saudáveis, sendo o principal sinal clínico um quadro de diarreia aguda mas, em pessoas que apresentam alterações em seu sistema imunológico, a criptosporidiose pode ser de longa duração, com diarreia crônica que pode persistir durante toda a vida do indivíduo uma vez que não existe uma droga efetiva contra este protozoário, até o momento.

Apresentam maior risco de aquisição desta parasitose os indivíduos idosos, as crianças até 5 anos de idade, os portadores de deficiências nutricionais ou de infecção pelo VIH/SIDA bem como aqueles em tratamento quimioterápicos ou transplantados (KOSEK et al., 2001 e FAYER et al., 2000).



A giardiose é uma parasitose causada pelo protozoário flagelado *Giardia duodenalis* que vive no trato gastrointestinal de humanos e outros mamíferos incluindo cães, gatos, bovinos, suínos, ovinos e eqüinos e é considerada, nos dias de hoje, como uma infecção re-emergente devido à sua prevalência aumentada em crianças que freqüentam creches, provocando sintomas como diarréia, perda de peso, dores abdominais e, falha no desenvolvimento físico e cognitivo (THOMPSON, 2000).

Entre 1920 e 1930, mais de 50 espécies de *Giardia* já tinham sido descritas e atualmente, com base em características morfológicas e especificidade de hospedeiro, apenas 6 espécies são reconhecidas sendo que apenas a *Giardia duodenalis* acomete os mamíferos, incluindo animais domésticos e o homem, conferindo a esta espécie um potencial zoonótico (THOMPSON, 2004).

Estas parasitoses são transmitidas pela via fecal-oral, quer pela ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos e cistos, usualmente eliminados nas fezes dos hospedeiros infectados ou pelo contato direto pessoa-a-pessoa, além da transmissão zoonótica (animal-homem), principalmente no caso da criptosporidiose.

A persistência de oocistos e cistos no ambiente, sua habilidade de sobreviver aos processos de desinfecção, a pequena dose infectante são fatores que favorecem a transmissão de espécies de *Cryptosporidium* e *Giardia* pela água, tornando difícil o controle da veiculação hídrica destes protozoários.

De 1984 a 2002, ocorreram cerca de 69 surtos epidêmicos de criptosporidiose nos Estados Unidos, atingindo aproximadamente 436.232 pessoas devido à ingestão de água contaminada (FAYER et al., 2000). Em países

como Reino Unido, Itália, Japão, Nova Zelândia, Austrália, Irlanda do Norte e Canadá, foram registrados 58 surtos e 38.284 casos desta parasitose (HOWE et al., 2002; OLIVEIRA, 2005).

O surto de maior proporção registrado até o momento, foi o de Milwaukee (Estados Unidos, 1993) que afetou 403.000 pessoas, resultando em 4.400 hospitalizações e 100 mortes, com custo total (referente às hospitalizações e perdas pela baixa produtividade das pessoas envolvidas no surto) de US\$ 96.244.000 (CORSO et al., 2003).

Uma característica comum a estes surtos é o fato de que, na maioria deles, as águas incriminadas atendiam aos padrões de potabilidade exigidos pela legislação específica (FAYER et al., 2000). Alguns surtos de criptosporidiose ocorridos nos Estados Unidos, no período de maio de 1984 a julho de 1995, foram estudados e constatou-se que as populações afetadas consumiram água proveniente de fontes naturais, poços, lagos e rios que estavam contaminadas com esgoto, fezes de gado ou infiltrações oriundas de fossas sépticas (SOLO-GABRIELE e NEUMEISTER, 1996).

A Reação de Imunofluorescência Direta (RID) com anticorpos monoclonais específicos para os parasitos em questão e a filtração de grandes volumes de água (100L-1000L) foram procedimentos amplamente empregados para avaliar a ocorrência destes protozoários no ambiente aquático, a despeito de limitações inerentes como alta variabilidade e baixa eficiência de recuperação. Em 1996, a Agência de Proteção Ambiental (E.P.A. USA), iniciou um programa com o objetivo específico de identificar e validar métodos analíticos para detecção destes parasitos nas águas destinadas ao consumo humano. Assim, foram desenvolvidos

os Métodos 1622 e 1623 que consistem de três etapas básicas: filtração das amostras, eluição ou recuperação do material filtrado e visualização dos protozoários (USEPA, 1997; 1999).

Embora não exista um método de detecção 100% eficiente, as técnicas de filtração em cartucho, floculação em carbonato de cálcio e filtração em membrana têm mostrado bons resultados nas recuperações de oocistos e cistos em água, sendo que, quando usadas membranas de acetato de celulose, observou-se uma melhor extração dos protozoários (SHEPHERD e WYN-JONES, 1996). Entre as novas metodologias desenvolvidas, o uso de cápsulas de filtração e a separação imunomagnética de oocistos e cistos permitiram um aumento significativo da performance do Método 1623 que permanece como referência de análise (QUINTERO-BITENCOURT et al., 2002).

Após a concentração do material, são usadas técnicas de visualização e quantificação dos protozoários como a RID e a citometria de fluxo respectivamente. Corantes fluorogênicos como DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole) são utilizados para evidenciar estruturas morfológicas internas dos oocistos e cistos (SMITH et al., 2002), sendo que atualmente para avaliação da infectividade podem ser usados os procedimentos de cultivo celular de *Cryptosporidium* e, os testes de infectividade em modelos animais para ambos os protozoários (SLIFKO et al, 1997; ROCHELLE et al, 2002). No caso do presente estudo, para a análise parasitológica das amostras de água de nascentes da cidade de Campos do Jordão, foram utilizados os métodos de filtração em membranas e RID para concentração, visualização e quantificação das formas

infectantes dos protozoários *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. de acordo com Franco e Cantúcio Neto, (2002).

A cidade de Campos do Jordão situa-se no nordeste do estado de SP, localizada a 180 Km da capital, a uma altitude média de 1700 metros. De acordo com o Relatório Técnico do Plano de Bacias de Campos do Jordão (2000), o turismo é uma das principais fontes de geração de recursos da cidade. Entre os fatores que contribuem para que um grande número de turistas seja atraído para a mesma, estão o clima cujas temperaturas chegam abaixo de zero nas estações mais frias do ano, as características geográficas da cidade e a presença de várias fontes hipotermiais de água mineral natural (SZIKSZAY e TEISSEDRE,1981; SILVA et al, 2002) e que são amplamente utilizadas pelos visitantes e pela população, por questões econômicas e culturais.

A existência de aquíferos livres proporciona o surgimento destas fontes que são originadas a partir do afloramento na superfície dos terrenos e do excedente de água infiltrada no solo em camadas mais profundas. A outra parcela, bastante significativa, de águas subterrâneas e que também são resultantes da infiltração na superfície das terras emersas (ilhas e continentes), constitui a umidade do solo, a qual é suporte fundamental da biomassa vegetal terrestre (REBOUÇAS, 2002).

No caso das fontes, a interação de fatores climáticos, de fatores geológicos (que regulam suas condições de ocorrência) e as características hidrominerais das rochas aquíferas da área em questão, são determinantes da qualidade da água e do reconhecido valor social e econômico atribuído a estas águas minerais naturais (REBOUÇAS, 2002).

No ano de 2002, a prefeitura do município chegou a monitorar mediante análises de amostras de água, a presença de indicadores microbiológicos em até 42 das fontes de água mineral natural, utilizadas pela população local e pelos visitantes.

Análises realizadas pela Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp), sobre a qualidade microbiológica (indicadores microbiológicos) da água proveniente das fontes naturais da Cidade de Campos do Jordão revelam que 13, de um total de 22 destas fontes, apresentaram padrão de qualidade inadequado para consumo humano, nas ocasiões em que foram realizadas as análises (Jornal Campos do Jordão & Cia, 09 a 15 de setembro de 2000). Este fato é importante do ponto de vista de saúde pública porque a população do município utiliza efetivamente esta água para fins diversos, entre eles preparo de alimentos e como água de beber (SILVA, 2002).

A contaminação do lençol freático e, conseqüentemente das nascentes, pode ocorrer de várias formas, entre elas pelo processo de drenagem de fezes do homem ou de animais (NIZEYI et al., 2002), pela infiltração de efluentes de fossas sépticas ou esgoto doméstico (HOWE et al., 2002), sob a influência de fatores climáticos e geológicos (REBOUÇAS, 2002) e pela falta de proteção das nascentes (MACLER e MERKLE, 2000).

Ressalte-se que, de acordo com informações fornecidas pela prefeitura de Campos do Jordão, algumas das fontes existentes na cidade, frente ao elevado número de vezes que apresentaram positividade para bioindicadores, foram lacradas, porém, a população voltou a utilizar água das mesmas, principalmente o segmento de baixa renda.

Em 2002, o Jornal Campos do Jordão & Cia divulgou a ocorrência de um surto de hepatite do tipo "A" na cidade de Campos do Jordão o qual foi atribuído à contaminação de alimentos e, principalmente, da água das fontes naturais. As chuvas podem agravar ainda mais o problema, uma vez que "enxurradas contaminam os pontos de captação de água e as fontes, com fezes e urina de animais e do homem e esgoto ou fossas clandestinas" (Jornal Campos do Jordão & Cia, 07 a 13 de dezembro de 2002).

Outra questão relevante é o possível impacto da descarga de efluentes domésticos (considerada a estrutura de saneamento básico existente na cidade) devido ao grande fluxo de turistas durante o inverno; estima-se que neste período, aproximadamente 200 mil pessoas visitem a cidade e que ao redor de 120 mil turistas fiquem hospedados em Campos do Jordão o que representa um aumento de 266% na população residente.

Considerando os fatos acima expostos, torna-se relevante do ponto de vista de Saúde Pública, investigar a ocorrência dos protozoários *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. na água proveniente das fontes naturais de Campos do Jordão.

2 - REVISÃO DA LITERATURA.

2.1 – GÊNERO *CRYPTOSPORIDIUM*

Os protozoários do gênero *Cryptosporidium* foram inicialmente descritos por Ernest Edward Tyzzer em 1907, quando estudava o ciclo de um parasito encontrado nas células epiteliais do trato gastrointestinal e fezes de camundongos. Em 1910, Tyzzer publicou o encontro de *Cryptosporidium muris* como a primeira espécie do gênero e, posteriormente, em 1912, este mesmo autor publicou mais um trabalho descrevendo outra espécie, o *Cryptosporidium parvum* cujo desenvolvimento ocorria somente no intestino delgado dos camundongos eliminando, nas fezes, oocistos menores do que os de *C. muris* (FAYER, 2004). No período compreendido entre 1955 a 2002, novas espécies foram descritas com base em critérios morfológicos, biológicos e desenvolvimentais (XIAO et al., 2004).

Com relação à classificação taxonômica do *Cryptosporidium*, nos últimos anos, o surgimento e uso de técnicas moleculares auxiliaram no esclarecimento de pontos obscuros da taxonomia e hoje, para sua classificação, são levados em consideração, além dos aspectos moleculares e histopatológicos, a biologia desenvolvimental e especificidade de hospedeiros (FAYER, 2004; CACCIÓ et al., 2005; SMITH et al., 2005).

Os protozoários do gênero *Cryptosporidium* pertencem ao Filo Apicomplexa (Levine, 1970), à Classe Sporozoa, subclasse Coccidiasina, ordem Eucoccidiorida, subordem Eimeriorina e à família Cryptosporidiidae (LEVINE, 1984; SODRÉ e FRANCO, 2001).

Os membros deste filo apresentam como característica comum, um conjunto de estruturas denominado complexo apical (anéis polares, roptrias,

micronemas, conóide e microtúbulos) que nas fases extracelulares, está relacionado com o movimento e penetração dos zoítos na célula hospedeira (BLACKMAN e BANNISTER, 2001).

Os oocistos de *Cryptosporium* são eliminados infectantes e quando ingeridos pelo hospedeiro susceptível, sofrem um processo de excitação estimulados pela elevação da temperatura e condições do intestino sob ação dos líquidos gástricos, liberando 4 esporozoítos móveis que penetram nos enterócitos (SMITH et al., 2005).

Os estágios de desenvolvimento subseqüentes são intracelulares, mas em ambiente extra-citoplasmático. Os oocistos são as únicas formas encontradas fora do hospedeiro, medem aproximadamente de 4 a 6 µm, são resistentes às condições ambientais e diferem de outros coccídios por serem eliminados já infectantes (FAYER, 2004; CACCIÓ et al., 2005).

A transmissão das espécies dos protozoários do gênero *Cryptosporidium* ocorre pela via fecal-oral; diferentes rotas são possíveis: o contato direto (humano-humano, animal-animal, humano-animal, animal-humano) ou indireto (por meio de superfícies e objetos contaminados com as formas infectantes), também mediante a veiculação hídrica, alimentar e possivelmente aérea (FAYER, 2004; CACCIÓ et al., 2005). Todas essas rotas de transmissão favorecem a ocorrência deste protozoário em um grande número de vertebrados.

Atualmente, 14 espécies dentro do gênero *Cryptosporidium* são consideradas válidas (*C. hominis*, *C. parvum*, *C. suis*, *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. felis*, *C. muris*, *C. andersoni*, *C. wrairi*, *C. baileyi*, *C. galli*, *C. serpentis*, *C.*

saurophilum e *C. molnari*) e algumas delas apresentam genótipos que expressam variantes gênicas diversas (CACCIÒ et al., 2005).

Destas, 7 espécies (*C. hominis*, *C. parvum*, *C. suis*, *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. felis*, e *C. muris*) e dois genótipos (de “macaco” e de “cervídeo”) estão associadas com a infecção humana. Excetuando-se *C. hominis* cujo ciclo de transmissão é acentuadamente antroponótico (MORGAN-RYAN, 2002), as demais espécies apresentam um comportamento zoonótico, como inicialmente atribuído à essa protozoose (XIAO et al, 2004; FAYER, 2004 e CACCIÒ et al., 2005).

As espécies *C. hominis* e *C. parvum* (genótipo bovino) são as que ocorrem com maiores freqüências no ser humano (CACCIÒ et al., 2000).

Os oocistos podem permanecer estáveis e infectantes em condições ambientais, tais como frio e umidade por períodos que variam de semanas a meses (CACCIÒ et al., 2005). Alguns experimentos em laboratório avaliam os efeitos do frio, calor, dessecação e radiação ultravioleta na sobrevivência dos oocistos; os resultados demonstraram que, quando mantidos até 6 meses em água destilada sob temperaturas de 0,5°C a 20°C, os oocistos ainda foram capazes de infectar camundongos. O tempo de sobrevivência diminuiu à medida que as temperaturas de armazenamento aumentam, sendo que a 35°C, os oocistos ainda infectaram camundongos mesmo após 1 semana de armazenamento (FAYER et al., 1998). Outros estudos de infectividade em camundongos ou cultivo celular do protozoário revelaram que oocistos mantidos a 15°C em água esterilizada permaneceram infectantes por 7 meses (JENKINS et al., 2002) e quando mantidos em condições extremas (como solução aquosa com 35% de sal e temperatura de

18°C) mantiveram a capacidade infectante após 40 dias (FREIRE-SANTOS et al., 1999).

Assim como as baixas temperaturas, a ausência de luz também pode manter os oocistos infectantes por períodos mais longos (ROBERTSON et al., 1992). Um aspecto importante não só referente à epidemiologia, mas também em relação à implicação em saúde pública é que os produtos e dosagens utilizados como desinfetantes em estações de tratamento de água não são capazes de inativar os oocistos (CARPENTER et al., 1999).

A ingestão de um pequeno número de oocistos pode causar infecção no hospedeiro; uma dose mínima infectante (ID_{50} = 9 a 1042) foi capaz de produzir infecção em voluntários que receberam 3 diferentes isolados de *Cryptosporidium* (OKHUYSEN et al., 1999), porém basta a ingestão de apenas 1 oocisto potencialmente infectante para causar infecção em um hospedeiro susceptível, sobretudo aqueles que apresentam deficiência no sistema imunológico (CACCIÒ et al., 2005). O período pré-patente da criptosporidiose é de 5 a 28 dias em humanos e, de 2 a 7 dias em bovinos (SMITH et al., 2005).

Os sintomas da criptosporidiose incluem, em relação ao hospedeiro imunodeficiente, diarreia aquosa, profusa que será tão mais severa quanto menor for o número de células CD4 (linfócitos T – auxiliares da resposta imune); usualmente, abaixo de 100 células/mm³ de sangue, o curso é crônico, podendo levar o indivíduo ao óbito por desidratação, estabelecendo-se uma relação onde a severidade da infecção depende da extensão do dano à imunidade celular (FLANIGAN, 1994).

Em pacientes imunocompetentes, normalmente a criptosporidiose é uma doença autolimitante e de curta duração (FAYER, 2004).

Um fator extremamente importante é que as drogas inicialmente testadas contra o protozoário em modelos animais mostraram pouca ou nenhuma eficácia ou eram tóxicas nas doses necessárias para impedir a multiplicação do parasito (FAYER e ELLIS, 1993; THEODOS et al., 1998), não existindo, até o momento, uma droga realmente eficaz contra o protozoário. A Nitazoxanida vinha sendo estudada na América Latina desde 1996 como forma de tratamento de gastroenterites e, em 2002, a FDA (Food and Drug Administration; EUA) aprovou o uso deste composto na forma de suspensão oral como tratamento da diarreia causada por *Cryptosporidium* em crianças de 1 a 11 anos de idade (FOX e SARAVOLATZ, 2005).

Em crianças, o protozoário pode causar um transtorno da função intestinal relacionado com processos inflamatórios das células intestinais parasitadas, tendo como consequência, um período maior de diarreia (até 21 meses) após a infecção; esses fatores quando associados às precárias condições socioeconômicas e deficiência nutricional contribuem para a mortalidade infantil, mesmo após os 2 anos de idade; estes dados foram registrados em países em desenvolvimento como Brasil, Peru e Guiné-Bissau (KOSEK et al., 2001).

Constituem segmentos de risco para aquisição de criptosporidiose: crianças menores que 5 anos de idade, principalmente aquelas que freqüentam creches e em menor extensão, adultos jovens; pessoas idosas; indivíduos imunodeficientes; viajantes entre países, que têm contato direto ou indireto com as fezes de indivíduos portadores de diarreia ou animais sintomáticos; pessoas que nadam em

piscinas ou outras águas recreacionais. As crianças, os idosos e os imunodeficientes têm um risco maior de apresentar a forma mais severa da doença (HUNTER et al., 2004 CACCIÓ et al., 2005).

A prevalência da criptosporidiose é bastante variável. Baseado na detecção dos oocistos em amostras fecais, a taxa de positividade situa-se de 2,6% a 21,3% na África; 3,2% a 31,5% na América Central e do Sul; 1,3% a 13,1% na Ásia; nos países desenvolvidos, estas taxas são menores (0,1% a 14,1% na Europa e 0,3% a 4,3% na América do Norte) (CACCIÓ et al., 2005).

No Brasil, os dados de prevalência da infecção sugerem que o protozoário é mais freqüente em crianças na faixa etária de 0 a 5 anos de idade, assim como, nos indivíduos portadores do vírus HIV e transplantados, sendo que alguns dados de prevalência mostram que as taxas podem ser variáveis: de 1,1% a 17,5% em crianças saudáveis (MANGINI et al., 1992; GENNARI-CARDOSO et al., 1996; FRANCO e CORDEIRO, 1996; MEDEIROS et al., 2001; DA SILVA et al., 2003); de 20,3% a 85,1% em crianças até 6 anos e com diarreia (SCHNACK et al., 2003; CARVALHO-ALMEIDA et al., 2006); de 7,0% a 9,3% em adultos HIV positivos (CIMERMAN et al., 1999; RIBEIRO et al., 2004); de 38,0% e 25,0% em pacientes que sofreram transplante renal ou que fizeram hemodiálise (CHIEFFI et al., 1998). Esses dados podem ser subestimados considerando o fato de que a criptosporidiose apresenta sinais clínicos semelhantes a outros agentes causadores de gastroenterite o que dificulta o diagnóstico clínico (WIEBBELLING et al., 2002). Deve-se levar ainda em consideração que para o diagnóstico laboratorial da criptosporidiose, são requeridas técnicas específicas de detecção

(inclusive de concentração e de coloração), e profissionais bem treinados para a realização dos exames (SODRÉ e FRANCO, 2001).

Aproximadamente 49 surtos de gastroenterite devido ao *Cryptosporidium* (relacionados à água de consumo humano) foram registrados entre 1984 a 1999 (FAYER et al., 2000) sendo que a maioria destes surtos ocorreu na América do Norte, Reino Unido e Japão, países pioneiros na pesquisa ambiental deste protozoário.

O maior dos surtos de veiculação hídrica que resultou em criptosporidiose ocorreu em Milwaukee, Wisconsin, EUA, no início de 1993 onde aproximadamente 403.000 pessoas foram afetadas (MACKENZIE et al., 1994; HOXIE et al., 1997) sendo que 4.400 indivíduos necessitaram de atenção médica; neste período foram registrados 100 casos de óbito relacionados com a doença. Em todos os surtos onde foi possível conduzir estudos mais detalhados, as principais causas destes episódios foram falhas no sistema de tratamento de água que muitas vezes, foram precedidas por fortes chuvas e enxurradas (FAYER et al., 2000).

Em relação ao ambiente, a ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* foi amplamente documentada em países como EUA, Canadá, Austrália, estando presentes em 4,0% a 100,0% das águas superficiais examinadas, com concentrações variando de 0,1 a 10.000 oocistos por 100 litros (LISLE e ROSE, 1995). Na Rússia, examinando água superficial de rios, Egorov et al., 2002, encontraram 23 amostras positivas em um total de 87 examinadas (26%); Smith e Grimason (2003) *apud* Fayer, et al., (2004) relataram que em 3700 amostras de água, procedentes de 11 países, 0 a 100% dos espécimens continham 0 – 252,7 oocistos/litro.

2.2 – GÊNERO *GIARDIA*

O protozoário *Giardia* foi descoberto por Van Leeuwenhoek no século XVII; a partir de então, surgiram novas descrições e nomenclaturas como segue: em 1859, Lambl descreveu o organismo com grandes detalhes morfológicos, incluindo-o no gênero *Cercomonas*; outros pesquisadores nomearam as espécies que ocorriam no homem como *Giardia lamblia*; em 1882, Kunstler descreveu *G. agilis* e nomeou, pela primeira vez, o gênero *Giardia*; em 1888, Blanchard propõe o nome *Lamblia intestinalis*; em 1902, Stiles altera para *Giardia duodenalis*. Em 1915, *G. lamblia* é proposto por Kofoed e Christiansen que também propõem *G. enterica*. Filice, em 1952, propõe as espécies *G. duodenalis*, *G. agilis* e *G. muris* considerando características morfológicas dos trofozoítos. Este protozoário pertencente ao Filo Sarcomastigophora, à Classe Zoomastigophorea e ao Gênero *Giardia* (ADAM, 2001).

Em relação à classificação taxonômica atual (que se baseia não somente na morfologia dos trofozoítos e cistos, mas também considera as ferramentas moleculares e especificidade de hospedeiros), são aceitas 6 espécies, a saber: *G. duodenalis*, *G. agilis*, *G. muris*, *G. microti*, *G. psittaci*, *G. ardeae*. As ferramentas moleculares permitiram uma nova definição destas espécies e, por exemplo, são reconhecidos 9 grupos ou assembléias dentro da espécie *G. duodenalis*, sendo que apenas os grupos A e B estão relacionados com a infecção humana; a estrutura genética dos dois maiores grupos (A e B) revelou que há sub-grupos (A I e B III) que apresentam comportamento zoonótico (MONIS E THOMPSON, 2003; THOMPSON, 2004). Desta forma, também o potencial zoonótico de *Giardia* tem sido assunto de controvérsia.

Os trofozoítos são móveis, possuem 4 pares de flagelos, têm simetria bilateral, superfície dorsal convexa e na parte ventral, possuem uma estrutura chamada de disco adesivo ou ventral; o tamanho aproximado é de 12 – 15 μm por 6 – 8 μm ; multiplicam-se na luz intestinal pelo processo de divisão binária. Os cistos de *Giardia* medem de 8 – 12 μm e são liberados infectantes nas fezes dos hospedeiros, embora sejam resistentes às condições ambientais e sobrevivam bem menos tempo em água superficial de rios comparativamente aos oocistos de *Cryptosporidium* (3 e 6 meses, respectivamente) (THOMPSON, 2004; CACCIÒ et al., 2005).

Giardia é um protozoário flagelado de distribuição cosmopolita; é o parasito intestinal mais freqüentemente detectado nos exames fecais nos dias de hoje nos países desenvolvidos; dados sobre a ocorrência deste patógeno na Ásia, África e América Latina estimam que aproximadamente 200 milhões de pessoas tenham giardiose sintomática com 500.000 novos casos relatados a cada ano. Assim como a maioria dos vertebrados, os animais domésticos (cães, gatos e outros animais de criação) podem ser hospedeiros de *Giardia duodenalis*. A presença de cistos infectantes e resistentes às condições ambientais somados ao grande número de hospedeiros revela o importante significado da *Giardia duodenalis* para saúde pública (THOMPSON, 2004).

Egorov et al., (2002) encontraram 30% de positividade ao examinarem 87 pontos referentes ao rio Sheksna, Rússia, contendo uma concentração média de 2 cistos por 100 litros. Cistos de *Giardia* foram detectados em mais que 2350 amostras de água superficial oriundas de 8 países, em concentrações ao redor de

5 cistos por litro e em 21% a 100% das amostras examinadas (SMITH e GRIMASON, 2003 apud FAYER et al., 2004).

Os protozoários do gênero *Giardia* em relação aos protozoários do gênero *Cryptosporidium* têm sido detectados com maior frequência e concentração nas águas superficiais e de consumo humano (CANTÚSIO-NETO, 2004; HACHICH et al., 2004; THOMPSON, 2004; CACCIÓ et al., 2005; OLIVEIRA, 2005).

A via de transmissão é semelhante à do *Cryptosporidium* (fecal-oral), podendo ocorrer diretamente entre pessoas ou indiretamente pela ingestão dos cistos presentes em alimentos ou água, o que favorece a disseminação da doença.

A giardiose está associada com vários sintomas incluindo má absorção intestinal (aguda e crônica), manifestações alérgicas, falha no desenvolvimento físico e cognitivo infantil. A exata contribuição da variabilidade genética para a sintomatologia está ainda em debate devido aos contrastantes resultados relacionando o grupo A de *G. duodenalis* a uma diarreia suave e intermitente e, o grupo B, aos quadros de diarreia aguda ou persistente e severa (THOMPSON, 2004).

As drogas mais comuns no tratamento da giardiose tanto humana como animal possuem nitroimidazol, benzimidazol e albendazol como base do princípio ativo (BARR et al., 1998; ZAJAC et al., 1998).

A veiculação dos cistos através da água contaminada e dos esgotos contribui para ocorrência de surtos de giardiose causados pela veiculação hídrica do protozoário. O primeiro e melhor documentado surto de veiculação hídrica de giardiose, nos EUA, ocorreu em Aspen, Colorado, em 1965 a 1966 (MOORE et al.,

1969; CRAUN, 1990). Desde então e até 1995, 24.541 casos de giardiose de transmissão hídrica foram relatados; esses surtos foram primeiramente registrados em regiões montanhosas (KRAMER et al., 1996).

Durante o período de 1998 a 2001 o número total de casos de giardiose nos EUA, diminuiu de 24.226 (em 1998) para 19.708 (em 2001), registrando-se em seguida um aumento em 2002 (21.300 casos). Maior número de casos foi observado entre os grupos etários de 1 a 9 anos e, 30 a 39 anos, comparativamente às demais faixas etárias (HLAVSA et al., 2005). Naquele país, a giardiose apresenta sazonalidade (início do verão até o outono). Este padrão sazonal está relacionado com maior atividade recreacional, durante os meses quentes do ano, quando as pessoas praticam natação em lagos, rios, piscinas e parques aquáticos.

Durante 1991-2000, *Giardia* foi identificada como agente etiológico em 9,4% dos surtos ocasionados por águas de recreação (10 em 106) e em 12,2% (21 de 130) dos surtos de gastroenterite por ingestão de água de beber (HLAVSA et al, 2005).

2.3 - Águas subterrâneas

A garantia de água para consumo humano segundo os padrões de potabilidade adequados é questão relevante para a Saúde Pública. Por definição, água potável é a água para consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos e químicos e radioativos atendam aos padrões de potabilidade e, que não ofereça risco à saúde (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

A água para consumo humano pode ser obtida de diversas origens; uma dessas, é o manancial subterrâneo que é um recurso utilizado por ampla parcela da população brasileira (15,6%), 9,9% na região sudeste. Somente no Estado de São Paulo, existem mais de 20.000 poços profundos e uma quantidade imensurável de poços rasos que fornecem água para abastecimento público, uso industrial e irrigação (FOSTER e HIRATA, 1993;). Além dos poços, as águas subterrâneas podem também ter sua origem em nascentes, minas, fontes de águas minerais naturais e galerias de infiltração (MOULTON-HANCOCK et al., 2000).

A água subterrânea é uma fonte alternativa para o suprimento de água de consumo humano e, oferece as seguintes vantagens: não causa impactos sobre o ambiente; produz água de boa qualidade com grande frequência, pois os processos de filtração e depuração do subsolo promovem a sua purificação, durante os processos de percolação no meio e apresentam a possibilidade de poder ser explorada tanto em áreas rurais como urbanas (PHILIPPI JR, 2005)

A água fica contida no subsolo em aquíferos que são formações rochosas ou geológicas com poros, ou espaços abertos (fraturas e fissuras). Existem aquíferos livres ou freáticos, cuja pressão da água na zona saturada está em equilíbrio com a pressão atmosférica; são mais comuns e mais explorados pela população, estando mais sujeitos à contaminação. Já os aquíferos artesianos a camada saturada está confinada entre camadas (solo ou rochas) impermeáveis ou semipermeáveis e a pressão da água no interior do aquífero é maior que a pressão atmosférica (ABAS, 2006).

A qualidade das águas subterrâneas deve ser preservada, daí a crescente preocupação com sua contaminação que pode ocorrer de diversas maneiras. Os esgotos constituem uma importante fonte de contaminação quando são lançados *in natura* e em grande quantidade nos rios, lagos e infiltrados nos lençóis freáticos (ALABURDA e NISHIHARA, 1998; REBOUÇAS, 2002). Outros riscos originam-se da possibilidade de contaminação das águas profundas, dependendo das ocupações desordenadas sobre os aquíferos tais como urbanização e atividade agrícola e pastoril. É um recurso esgotável levando em consideração que os reservatórios subterrâneos podem não ser realimentados na devida proporção quando a velocidade de extração for maior que a reposição (balanço hídrico negativo) (PHILIPPI JR, 2005).

As disposições inadequadas de resíduos sólidos, urbanos e industriais promovem a contaminação por substâncias orgânicas e inorgânicas; além disso, outros fatores como a composição do solo, as condições climáticas vigentes podem comprometer a qualidade da água subterrânea, de modo que bactérias, vírus, e parasitas podem contaminar este tipo de água.

A contaminação da água subterrânea de poços e sistemas de distribuição com bactérias do grupo coliformes foi registrada entre os anos de 1994 e 1999 quando a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) constatou violação nos níveis máximos de contaminantes em 25,6% (40.000/156.000) das amostras analisadas (MACLER e MERKLE, 2000).

A USEPA (1994) lista mais de 100 patógenos virais e bacterianos que podem ocorrer nas águas subterrâneas, incluindo espécies de *Giardia* e de *Cryptosporidium*, apesar de que a presença destes protozoários em água

subterrânea indica influência da água superficial. A maioria desses organismos é de origem fecal e, são transmitidos por uma rota de exposição fecal-oral (MACLER e MERKLE, 2000).

Uma significativa fração de todos os surtos de doenças de veiculação hídrica é associada à água subterrânea; nos EUA, estima-se que 750 mil a 5,9 milhões de enfermidades por ano resultem da ingestão de águas subterrâneas contaminadas; a mortalidade relacionada a estes casos situa-se ao redor de 1.400 a 9.400 mortes por ano (MACLER e MERKLE, 2000). Craun et al., (1997) relataram que dos 356 surtos de transmissão hídrica ocorridos entre 1971 a 1994, 58% destes foram causados pela contaminação dos sistemas de águas subterrâneas.

A presença dos protozoários *Cryptosporidium* sp e *Giardia* sp tem sido relatada em águas subterrâneas indicando que ocorre passagem das formas infectantes destes parasitos (oocistos e cistos) através do solo e que as barreiras naturais não são suficientes para evitar a contaminação das nascentes, poços e aquíferos (MOULTON-HANCOCK et al., 2000). Segundo estes mesmos autores, a presença de algas contendo clorofila em águas subterrâneas é um indicador da migração de águas superficiais até as fontes, minas, nascentes e galerias de infiltração; dois gêneros de diatomáceas (*Navicula* e *Synedra*) foram considerados como melhores preditores da ocorrência de protozoários neste tipo de água (MOULTON-HANCOCK et al., 2000). No entanto, em um estudo da ocorrência destes protozoários em diferentes suprimentos de água, foi observado que a prevalência dos oocistos e cistos em águas subterrâneas é baixa (com uma concentração média entre 26 oocistos/100L e 6 cistos/100L), comparativamente

as águas superficiais cujos registros de concentração variaram de 58 a 260 oocistos/100L e 380 a 2100 cistos/100L (SOLO-GABRIELI et al., 1998).

Vários surtos epidêmicos decorrentes da ingestão das águas subterrâneas foram associados a deficiência no sistema de distribuição de água ou poços e nascentes que não foram adequadamente protegidos da contaminação por esgotos ou fezes de animais drenadas das áreas de pastagem após a ocorrência de chuvas (CRAUN et al., 1998; SEARCY et al., 2006).

Oocistos podem migrar 90 cm de profundidade no solo; exibem carga superficial negativa podendo tornar-se um contaminante de águas subterrâneas durante irrigação pelo processo de percolação do solo (ARMON et al., 2002).

Entre novembro de 1992 e fevereiro de 1993, na região nordeste da Inglaterra, 47 casos de criptosporidiose foram relatados. Houve uma forte associação entre estes casos e residência em uma área cujo abastecimento era suprido por duas fontes de água subterrânea. Embora a presença de oocistos jamais tenha sido flagrada em amostras de água destas fontes, foi documentado que durante a ocorrência de fortes chuvas, uma destas fontes estava sob influência de água superficial proveniente de um campo de pastagens (BRIDGMAN et al., 1995).

Outro estudo realizado em San Pedro Sula, Honduras, mostrou que as águas subterrâneas continham altas concentrações de oocistos de *Cryptosporidium* (26/100 litros), superiores inclusive às concentrações de *Giardia* (6/100 litros). Os autores desta pesquisa (SOLO-GABRIELLE et al., 1998) interpretaram este achado como uma indicação de que as águas subterrâneas

estão relativamente protegidas da ocorrência de *Giardia* em função do maior tamanho dos cistos que ficariam retidos nas camadas rochosas filtrante.

Análises de água subterrâneas em 166 diferentes locais nos EUA mostraram que 11% destes (19/166) apresentaram durante o período de investigação, resultado positivo para os protozoários *Cryptosporidium* e *Giardia* ou ambos, em algumas ocasiões. Neste mesmo estudo, a presença de *Giardia* foi correlacionada com a presença de *Cryptosporidium* ($p=0.004$) (MOULTON-HANCOCK et al., 2000).

Em março de 2000, foi registrado um surto de criptosporidiose que afetou a população de uma pequena cidade turística no noroeste da Inglaterra e durante o qual, oocistos de *Cryptosporidium* foram encontrados em 58 amostras de fezes das pessoas afetadas, assim como na água de torneira das residências destes indivíduos e no sistema público de tratamento e abastecimento de água. Este surto atingiu pessoas com idade entre 7 meses a 95 anos, ressalte-se que a contaminação da água ocorreu após um evento de chuva que causou a drenagem das fezes de animais existentes nas áreas de pastagem (juntamente com as enxurradas) até o sistema de captação e reservatórios da cidade (HOWE et al., 2002).

2.4 – OCORRÊNCIA DOS PROTOZOÁRIOS *Cryptosporidium* sp. E DE *Giardia* sp. NO BRASIL

No Brasil, o cenário atual é caracterizado pela progressiva contaminação das águas superficiais e subterrâneas devido à deficiente infra-estrutura do sistema de esgotamento sanitário (FUNASA – Fundação Nacional de Saúde; Ministério de Saúde). Dos 5.507 municípios existentes em 2000, 47,8% não dispõe de redes de esgoto sanitário e os principais receptores do esgoto *in natura*, não tratados, são os rios e o mar o que compromete a qualidade de água utilizada para o abastecimento, irrigação e recreação (IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística, 2000).

No Estado de São Paulo, cerca de 70% a 72% dos municípios utilizam o manancial subterrâneo total ou parcialmente para o abastecimento, onde existem aproximadamente 40.000 poços tubulares e, deve ser considerado que a parcela mais carente da população é a que faz mais uso da água subterrânea para a subsistência a partir de poços rasos (REBOUÇAS, 2002; CETESB, 2004).

Entre os demais fatores contribuintes para contaminação dos cursos d'água estão os lançamentos de dejetos sólidos e esgoto nas proximidades dos mesmos. O lançamento de esgoto nos córregos e rios tem um caráter protetor para as famílias geradoras, porém colocam em risco a saúde das famílias a jusante do lançamento (TEIXEIRA, 2004).

Nos últimos anos, as investigações sobre a ocorrência destes protozoários patogênicos no ambiente aquático vêm aumentando significativamente no Brasil. Oocistos foram detectados em água de consumo humano (TOMPS, 1998), em esgoto e águas superficiais (RÉ, 1999; DIAS JUNIOR, 1999; FARIAS et al, 2002),

em águas de poços subterrâneos (GAMBA, et al, 2000) e tratadas (MULLER, 2000), mediante o emprego de precipitação química ou filtração em membranas. Em levantamento realizado pela CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental; Secretaria de Estado do Meio Ambiente), a presença de *Cryptosporidium* e *Giardia* foi documentada nas águas superficiais de 28 mananciais do Estado de São Paulo com positividade de 5% para oocistos e 31,5% para cistos (CETESB, 2002).

Franco e Cantúcio Neto (2002) utilizando a técnica de filtração em membrana de ésteres de celulose com 47mm de diâmetro e 3 μ m de porosidade nominal e RID detectaram oocistos de *Cryptosporidium* em água mineral engarrafada, com concentrações variáveis ao redor de 0,2 a 0,5 oocistos/litro e, nos experimentos controles, as taxas de eficiência de recuperação obtidas situaram-se entre 90,0% e 91,8%.

Gomes et al. (2002) relataram a presença de oocistos de *Cryptosporidium* em esfregaço corados com os métodos de coloração de auramina e de Kinyoun, após examinar amostras de água de 7 fontes naturais nos municípios de Sorocaba e Votorantim, no Estado de São Paulo; os esfregaços foram confeccionados com sedimento obtido por "técnicas alternativas de concentração" após recuperação por eluição do material retido em gaze utilizada para filtrar volumes de 720 - 1800 litros d'água diretamente na fonte.

Sumarizando, os estudos sobre a presença de protozoários patogênicos em águas de origem subterrâneas no Brasil ainda são escassos. Por outro lado, estudos sobre a contaminação bacteriológica do aquífero livre na Região Nordeste

do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, demonstraram que a água subterrânea deste tipo de aquífero apresentou um alto grau de contaminação por coliformes fecais (mais de 70% dos poços examinados) (TEDESCO e REGINATO, 2004).

Na área rural, Amaral et al., (2003), analisando água destinada ao consumo humano provenientes de fontes e poços, constataram que 96,7% das amostras examinadas estavam fora dos padrões microbiológicos de potabilidade.

2.5 - MÉTODOS DE DETECÇÃO DOS PROTOZOÁRIOS *Cryptosporidium* sp. E *Giardia* sp. EM AMOSTRAS HÍDRICAS

A partir da ocorrência dos surtos, tornou-se necessária a implantação de métodos de detecção dos protozoários em amostras hídricas que mostrava-se bastante limitada, pois as técnicas apresentavam grande variabilidade, baixa reprodutibilidade, exigiam a filtração de grandes volumes de água (100 L para água bruta e 1000 L para tratada) e eram bastante comuns resultados falsos-positivos e falsos-negativos (LINDQUIST et al., 1999; ALLEN et al., 2000; QUINTERO-BETANCOURT et al., 2002).

A metodologia recomendada pelo Standard Methods (2005) para pesquisa dos protozoários *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. em amostras hídricas deve seguir basicamente três etapas: coleta e concentração das amostras (filtração em cartuchos ou membranas, eluição e centrifugação); purificação ou separação dos organismos-alvo do restante das partículas (centrifugo - flutuação em gradientes de densidade ou separação imunomagnética); técnicas de detecção ou visualização (exame microscópico com anticorpos ou corantes fluorescentes, técnicas moleculares).

A seleção do método apropriado dependerá particularmente das características do material a ser examinado e objetivo de estudo, pois a precisão e sensibilidade do método bem como os níveis de detalhes exigidos são fundamentais na escolha do melhor procedimento para uma dada aplicação (FRICKER e CRABB, 1998).

Os métodos existentes para detecção dos protozoários patogênicos em amostras hídricas (métodos 1622 e 1623) sofreram modificações após a inclusão de procedimentos como o uso de cápsulas de filtração, técnicas de eluição e purificação mediante a separação imunomagnética, proporcionando um aumento na performance dos métodos com taxas de recuperação de 19,5% a 54,5% (McCUIN e CLANCY, 2003). Entretanto, fatores inerentes ao Método 1623 como os altos investimentos em equipamentos e reagentes, a complexidade analítica e a demanda do pessoal técnico altamente capacitado, podem limitar a implantação desta portaria.

A Portaria Nº 518 do Ministério da Saúde publicada em 25 de Março de 2004 “estabelece procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade” que as companhias de saneamento devem adotar para manter a qualidade da água distribuída para a população (BRASIL MINISTÉRIO DA SAÚDE 2004). Todavia, recomenda que seja feita a investigação da presença dos protozoários patogênicos *Cryptosporidium* sp. e de *Giardia* sp. nas águas de abastecimento público de origem superficial.

Com relação à água de origem subterrânea (poços, nascentes e fontes), a Portaria 518 não menciona a pesquisa destes protozoários; entretanto a presença

de microorganismos do grupo coliformes totais é tolerada mas determina-se que as causas de contaminação precisam ser investigadas e que implante-se medidas preventivas para proteção das nascentes. A presença dos microorganismos do grupo coliformes fecais em águas de origem subterrânea caracteriza a não potabilidade das mesmas.

Em relação à legislação vigente para água mineral natural, a Resolução RDC nº 54 de 15 de Junho de 2000 do Ministério da Saúde não recomenda especificamente a pesquisa da presença de protozoários patogênicos, em águas de origem subterrânea destinada ao consumo.

2.6 – ÁGUA MINERAL NATURAL EM CAMPOS DO JORDÃO

Análises microbiológicas realizadas em água provenientes de 24 fontes naturais de Campos do Jordão revelaram que 58,3% (14/24) destas apresentaram contaminação por coliformes fecais em mais de uma ocasião (JORNAL CAMPOS DO JORDÃO, 2000) e, somando-se o fato de que os protozoários patogênicos são eliminados nas fezes dos hospedeiros infectados, estas podem contaminar os cursos d'água mediante a drenagem hídrica; assim, a pesquisa de *Cryptosporidium* e de *Giardia* na água das nascentes se faz necessária.

3 - OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi: - avaliar a presença dos protozoários patogênicos *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em amostras de água de consumo proveniente das fontes naturais de Campos do Jordão, aplicando técnicas específicas de detecção da presença de oocistos e cistos em amostras hídricas.

3.1 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a possível variabilidade da ocorrência de protozoários patogênicos nas diferentes estações do ano, mediante a colheita periódica de amostras hídricas das fontes minerais;
- Determinar os fatores contribuintes para a contaminação das fontes, mediante avaliação das características ambientais nas proximidades do ponto de captação.
- Investigar a prevalência de espécies dos protozoários patogênicos *Cryptosporidium* e *Giardia* e demais parasitoses intestinais entre moradores de áreas rurais da cidade de Campos do Jordão que relatavam uso exclusivo das águas das fontes, por meio de um inquérito parasitológico fecal.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - LOCAL DE COLETA

A cidade de Campos do Jordão, localizada a 1.700 metros de altitude em uma área de proteção ambiental no nordeste do Estado de São Paulo (Figura 1), a 180 km da capital, e a 250 km de Campinas (22°44'22"W, 45°35'29"S), foi o local de coleta das amostras de água para a realização do estudo proposto em função do expressivo número de fontes de água mineral natural presente neste município (n=42).

As colheitas das amostras de água foram efetuadas em:

- 1) Seis Fontes da área urbana, localizadas em bairros residenciais os quais também contavam com sistema público de distribuição de água;
- 2) Seis Fontes da área rural, sendo que a água destas nascentes era a única disponível para consumo dos habitantes das pequenas comunidades presentes na zona rural de Campos do Jordão.

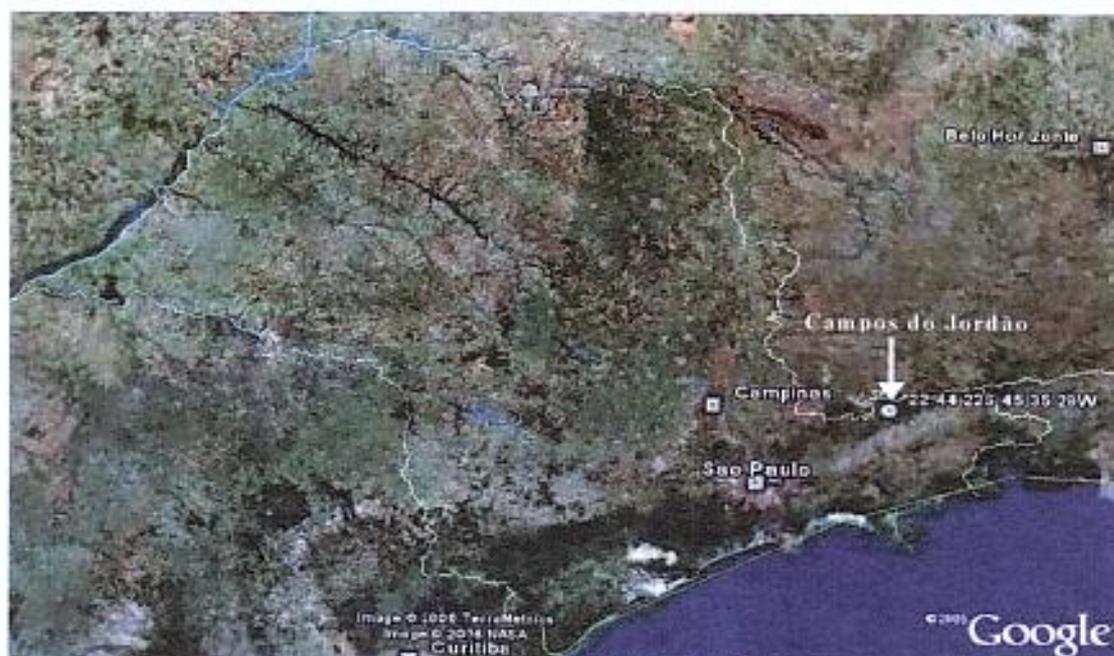


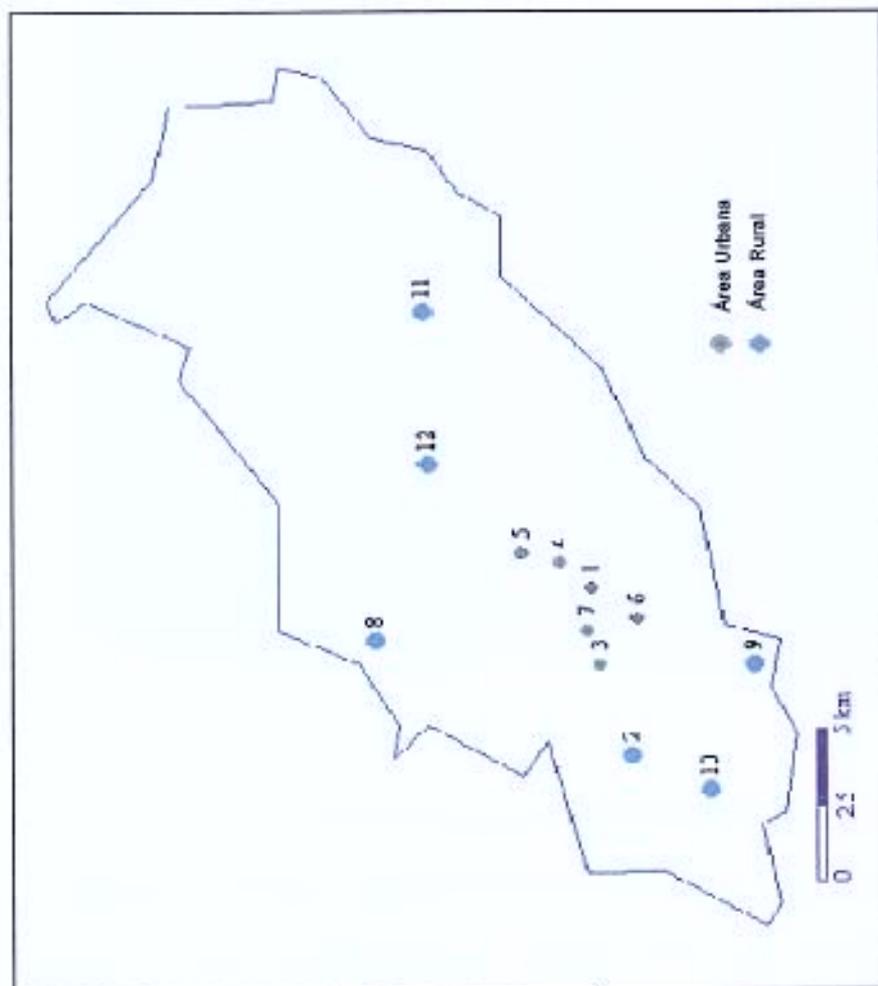
Figura 1: Localização geográfica dos municípios de Campos do Jordão, Campinas e São Paulo (capital).

4.2 – CRITÉRIOS DE ESCOLHA DAS FONTES PARA INCLUSÃO NO ESTUDO.

Para a escolha das fontes a serem incluídas no estudo, elegeu-se critérios como: consumo efetivo da água das fontes pela população; histórico de positividade para coliformes totais e fecais nos últimos 12 meses que antecederam ao início do período de coleta*; risco potencial de contaminação com fezes humanas e de outros animais; ponto de captação localizado em áreas de pastagens ou de circulação de pessoas e animais domésticos, ou próximos ao despejo de esgoto *in natura*, de lixão ou entulhos.

As fontes selecionadas com base nos critérios acima descritos, foram numeradas (1 a 12) e, a partir de então, denominados pontos *de coleta* (Figura: 2).

* Dados obtidos dos laudos de análises microbiológicas elaboradas pela Sabesp.



4.2.1 CARACTERÍSTICAS DAS FONTES ESCOLHIDAS

4.2.2 - FONTES DA ÁREA URBANA

As Fontes 1, 3 e 6 (Figura 3) localizam-se em bairros residenciais e apresentam características comuns como presença de lixo nas proximidades do ponto de captação e da fonte.



Figura 3: Fontes 1, 3 e 6 da área urbana de Campos do Jordão, SP, Brasil.

As Fontes 4, 5 e 7 (Figura 4) situam-se em área comercial e são amplamente utilizadas por turistas; seus fontanários razoavelmente conservados e nas proximidades não foi observada a presença de lixo. As fontes 5 e 7 têm seus respectivos pontos de captação distante do fontanário e a circulação de pessoas e animais domésticos sobre estes é bastante comum.



Figura 4: Fontes 4, 5 e 7 da área urbana de Campos do Jordão, SP, Brasil.

4.2.3 – FONTES DA ÁREA RURAL

Nas Fontes da área rural (2, 8, 9, e 10), na maioria das vezes, devido às condições de relevo vigentes na região, a água que brota nas nascentes dentro da mata é conduzida por canalizações precárias e armazenada em reservatórios inadequados do ponto de vista sanitário (Figura 5), sendo que, em períodos de chuvas, estes reservatórios podem ser recobertos pela água das enxurradas que descem dos morros e dos pastos.



Figura 5: Reservatórios das fontes 2, 8, 9 e 10 da área rural de Campos do Jordão, SP, Brasil.

O reservatório da Fonte nº 11 é feito de alvenaria e coberto com tampa de cimento, o ponto de captação é subterrâneo e está localizado em área de reflorestamento. Diferente das demais fontes da área rural, na Fonte 12, o sistema de captação está diretamente conectado a partir do brotamento da água nas rochas (Figura 6).

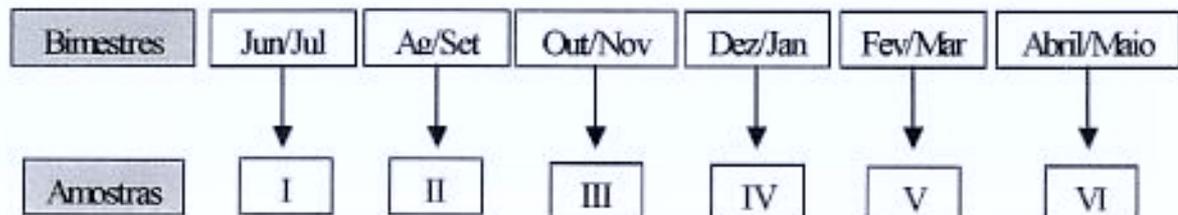


Figura 6: Fontes 11 e 12 da área rural de Campos do Jordão, SP, Brasil.

4.3 - COLHEITA DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

As amostras de água provenientes destas fontes foram colhidas e examinadas no período de junho de 2003 a maio de 2004 englobando, em quatro trimestres, períodos específicos como os de maior fluxo de turistas na cidade (julho), maior pluviosidade (janeiro a março) e menor pluviosidade (maio a setembro).

O cronograma de colheita foi estabelecido de forma que, a cada dois meses, fosse colhida uma amostra de 20 litros de água proveniente de cada fonte, como ilustra o diagrama abaixo:



As amostras de água foram colhidas utilizando-se galões de plástico, descontaminados, lavados e enxaguados com água destilada; previamente à coleta, estes galões foram banhados com Solução de Eluição (SE: Tween 80- 0,1% e Antifoam - 0,01%; H₂O destilada qsp - 100ml).

Após a colheita, as diversas amostras foram acondicionadas em caixas de isopor refrigeradas e, desta forma, transportadas até o Laboratório de Protozoologia do Departamento de Parasitologia, do Instituto de Biologia da UNICAMP.

4.4 – EXAME PARASITOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

O tempo decorrido entre a colheita da amostra no campo e o processamento no laboratório, não ultrapassou 24 horas.

4.4.1- FILTRAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

O método utilizado para filtrar as diversas amostras foi o mesmo empregado por Franco & Cantúcio Neto (2002), para detecção de espécies de *Cryptosporidium* e *Giardia* em água mineral engarrafada. Brevemente, este procedimento consistiu na filtração de 20 litros de água em membranas de ésteres mistos de celulose (47mm de diâmetro e 3 μ m de porosidade nominal; Millipore[®]), apoiadas em porta-filtro de vidro (Gelman[®]), por meio de uma bomba de vácuo com capacidade para filtrar até 4 litros por minuto (Figura 7).



Figura 7: Sistema utilizado para filtração das diversas amostras de água: bomba de vácuo e porta filtro.

4.4.2 - PROCEDIMENTO DE ELUIÇÃO

Após filtração, cada membrana (Figura 8) foi transferida para placa de Petri de plástico e umedecida com solução de eluição (SE). O material retido na membrana foi extraído mecanicamente mediante a raspagem cuidadosa da superfície da mesma com o auxílio de alças plásticas flexíveis e, alternadamente, foram feitas lavagens sucessivas da membrana com SE; estas duas etapas totalizando 20 minutos; o líquido resultante foi transferido para um tubo cônico de vidro com capacidade de 15ml, previamente enxaguado com SE e submetido à centrifugação a 1250 X g por 15 minutos, duas vezes. Finalmente, o sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso em água destilada até o volume de 1ml, para posterior enumeração das formas de resistência eventualmente presentes nas diversas amostras, mediante a coloração com anticorpos monoclonais.

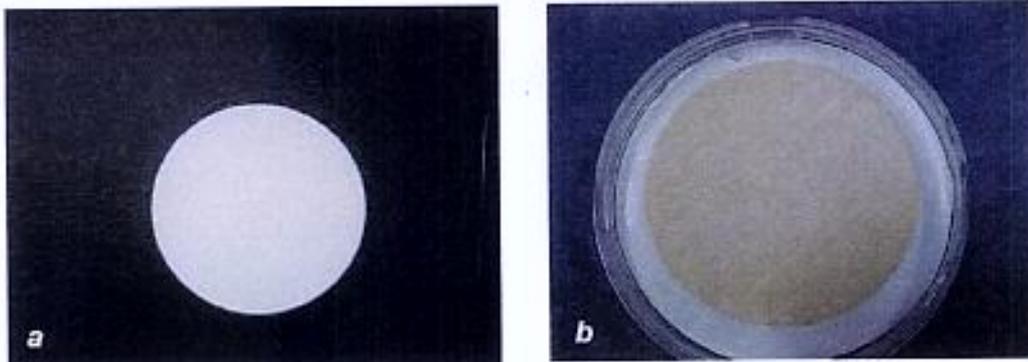


Figura 8: Aspecto das Membranas utilizadas: (a) antes e (b) após o processo de filtração.

4.4.3- ENUMERAÇÃO E VISUALIZAÇÃO DOS PROTOZOÁRIOS

A técnica empregada para visualização e enumeração dos protozoários foi a reação de imunofluorescência direta (RID) com a utilização do kit Merifluor® *Cryptosporidium-Giardia* (Meridian Bioscience, Cincinnati, Ohio) com base nas instruções do fabricante, como segue:

Alíquotas de 5µl da suspensão “controle positivo” e “controle negativo” (presentes no kit Merifluor) e da amostra de água a ser examinada (sedimento) foram distribuídas de forma homogênea e respectivamente em cada poço da lâmina de imunofluorescência. Após 30 minutos de secagem em temperatura ambiente, procedeu-se à fixação com metanol (durante 10 minutos).

A seguir, o reagente de detecção contendo anticorpo monoclonal e a solução de contra-coloração, ambos presentes no kit, foram gotejados no poço da lâmina e estas foram incubadas em câmara úmida durante 30 minutos à temperatura ambiente e protegidas da luz.

Em seqüência, cada poço da lâmina foi lavado por gotejamento de solução tampão fosfato (pH 7,5) presente no kit, sendo o excesso de líquido retirado inclinando-se a lâmina a 45° sobre papel absorvente.

Com a finalidade de realizar o teste confirmatório da morfologia, foi empregado o corante fluorogênico vital DAPI (4'6- diamidino-2-fenilindole - Sigma Chemicals®), em procedimento simultâneo a RID. Para tanto, foi colocado em cada poço da lâmina, 10 µl de DAPI diluído (1/2500), deixando reagir 30 minutos. Decorrido esse intervalo de tempo, a lâmina foi lavada, sucessivamente, com

solução tampão (3 min.) repetindo-se essa etapa uma vez mais e, com água destilada (1 min.; 1 vez).

Após a retirada do excesso de líquido, com auxílio de papel absorvente, a lâmina foi transferida para um dessecador onde permaneceu durante 1 hora. Finalmente, as preparações foram cobertas com lamínulas após adição de meio de montagem contendo glicerol (presente no kit Merifluor) e acondicionadas em placas de Petri, ao abrigo da luz até o momento do exame microscópico.

As diversas lâminas foram examinadas em microscópio de epifluorescência (Jenalumar – Carl Zeiss®) usando-se filtros de excitação (450-490nm) e de barreira (520 nm) para FITC e para o DAPI (excitação: 365-400nm e barreira: 395nm).

Foram consideradas como positivas aquelas amostras que apresentaram estruturas com tamanho e formato compatíveis com cistos de *Giardia* sp. (8 - 12µm) e oocistos de *Cryptosporidium* sp. (4 - 6µm) e intensidade de fluorescência em tonalidade “verde-maçã brilhante” predominante na parede dos organismos. Em relação ao teste confirmatório da presença dos protozoários, foram utilizados os seguintes indicadores: a presença de núcleos em tom “azul-céu” brilhante, no interior do oocisto/cisto. A microscopia de contraste de fase também foi utilizada para visualizar a presença de caracteres morfológicos internos como número de esporozoítos ou resíduo dos oocistos e, os núcleos e axonemas dos cistos, quando necessário (SMITH et al. 2002).

4.4.3.1 - QUANTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS OU CISTOS NAS AMOSTRAS

Para calcular o número de oocistos ou cistos por litro (X) nas amostras examinadas utilizou-se a seguinte equação:

$$X = \frac{n}{K} \times \frac{S}{A} \quad (a)$$

X = concentração de oocistos ou cistos /L

n = número de oocistos ou cistos visualizados

k = 5 (vol. de sedimento examinado = 5 μ l)

S = volume do sedimento obtido (μ l)

A = volume filtrado da amostra (L)

4.5 - EXPERIMENTOS CONTROLES POSITIVO

Foram realizados experimentos controles-positivos para avaliar a sensibilidade da metodologia empregada neste estudo.

Para isso, a suspensão do kit Merifluor contendo oocistos e cistos foi diluída em PBS estéril (1:10) e três alíquotas de 5 μ l desta diluição foram colocados em cada um dos três poços da lâmina de imunofluorescência. Efetuou-se, a seguir a RID (quando oocistos e cistos foram visualizados e enumerados), obtendo-se a média de 84,6 oocistos e 11,5 cistos em cada 5 μ l, considerando-se as contagens correspondentes aos três poços da lâmina.

Tendo por base este valor, foram utilizados 100µl desta suspensão previamente padronizada para contaminar artificialmente 20 litros de água destilada. A proporção dos protozoários inoculados nos experimentos controles foi de 84,6 oocistos/litro e 11,5 cistos/litro. Estas amostras permaneceram em repouso e sob refrigeração durante 24 horas; a seguir, foram submetidas aos mesmos procedimentos de filtração, eluição e visualização descritos anteriormente.

O cálculo da eficiência de recuperação foi obtido mediante a aplicação da equação:

$$Y = \frac{r}{i} \quad (b)$$

Y = eficiência de recuperação

r = número de (oo)cistos recuperados

i = número de (oo)cistos inoculados

4.6 - EXPERIMENTOS CONTROLE NEGATIVO

Todo o material usado durante a colheita e processamento laboratorial das diversas amostras foi previamente descontaminado. No entanto, aleatoriamente, foram feitos experimentos controles negativos por meio de filtração de volumes similares de água destilada, executando-se a seguir todos os protocolos de filtração, eluição e visualização nestas amostras, com a finalidade de comprovar a eficácia do processo de descontaminação do material utilizado.

4.7- CONTROLE DE QUALIDADE DA RID

Durante o processo da reação de imunofluorescência direta, foram processadas alíquotas de amostras positivas e negativas (suspensão controle do kit Merifluor) de acordo com as instruções do fabricante, para verificação da qualidade da RID; a cada 6 lâminas processava-se uma, como controle.

4.8 - DETERMINAÇÃO DE OUTROS PARÂMETROS (TEMPERATURA, pH E VAZÃO DAS FONTES NATURAIS) E DADOS CLIMÁTICOS (PRECIPITAÇÃO HÍDRICA E TEMPERATURA DO AR).

Por ocasião das diversas coletas de água, foram determinados os seguintes parâmetros, como segue: temperatura da água e do ar; pH e vazão de água nas fontes naturais. A temperatura da água foi medida utilizando um termômetro de mercúrio (-10 a 150°C; Incoterm[®]) no momento da coleta das amostras. Para medir o pH, foi empregado um peagômetro de bancada (Quimis[®]), sendo esta medida realizada no laboratório.

A vazão de cada uma das fontes foi medida levando-se em consideração, no caso deste estudo, o tempo necessário (em minutos) para encher um galão de coleta com capacidade para 5 litros.

Os dados de precipitação hídrica e temperatura do ar (máxima e mínima) foram obtidos junto ao Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas do Instituto Agrônomo de Campinas (CIAGRO – IAC).

4.9 – INQUÉRITO PARASITOLÓGICO

Em abril de 2004, foram convidados a participar do inquérito parasitológico mediante exames copro-parasitológicos, aproximadamente 290 pessoas com idade entre 0,5 e 71 anos, de ambos os sexos, moradores do município de Campos de Jordão.

Como critérios de elegibilidade para inclusão no estudo transversal da prevalência de criptosporidiose, de giardiose e demais parasitoses intestinais, foram considerados os seguintes fatores: - uso exclusivo das águas das fontes (Fonte 8 e 10) naturais presentes no município e – ser morador dos bairros Campista ou Vila dos Mellos (de acordo com as informações obtidas junto à Secretaria do Meio Ambiente/Município de Campos do Jordão, esses bairros eram abastecidos somente com água das Fontes 8 e 10, respectivamente e não contavam com infra-estrutura de saneamento básico, estando localizados em áreas rurais).

Foram colhidas, em dias alternados, três amostras de fezes (em frascos contendo solução de formalina 10% como fixador) e uma amostra a fresco, por indivíduo.

As diversas amostras fecais preservadas em formalina 10% foram submetidas aos seguintes métodos: (1) centrífugo-concentração em formalina-éter-água destilada (FRANCO e CORDEIRO, 1996) seguido de coloração álcool-ácido resistente modificada (HENRIKSEN e POLHENZ, 1981) substituindo a solução aquosa de ácido sulfúrico 2% por solução de álcool-ácido-acético (álcool etílico 99,5 mL – ácido acético glacial 0,5 mL) no procedimento de descoloração, (2) centrífugo-flutuação em solução saturada de sulfato de zinco gr. sp. = 1,2g/ml

(FAUST et al., 1938; BARLETT et al., 1978), para a pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* sp, de cistos de *Giardia* sp e outros protozoários intestinais, respectivamente; (3) flutuação em solução saturada de cloreto de sódio gr. sp. = 1.13 g/ml (WILLIS, 1921) para pesquisa de ovos de ancilostomídeos; (4) sedimentação espontânea (LUTZ, 1919; HOFFMAN et al., 1934) e (5) Kato-Katz (KATO e MIURA, 1954; KATZ et al., 1970), para os demais ovos de helmintos intestinais.

Com a finalidade de informar aos moradores o propósito da presente pesquisa, foram ministradas palestras nas escolas dos dois bairros, nas quais estavam presentes, moradores e membros das secretarias de Saúde, Meio Ambiente e da Educação do município; após as mesmas, foram obtidos os termos de consentimento (Anexo II) escrito de cada indivíduo (ou do responsável) interessado em realizar os exames parasitológicos fecais.

No momento da colheita fecal, foram obtidos dados pessoais, clínicos e epidemiológicos mediante a aplicação de questionário semi-estruturado (Anexo I). O indivíduo somente foi incluído nas análises epidemiológicas finais quando completado o questionário e a coleta de 3 amostras de fezes, no mínimo.

O projeto referente à este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp e teve o parecer favorável ao desenvolvimento (Nº 193/2006).

4.10- ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos neste estudo foram avaliados, inicialmente, por meio de análise estatística descritiva (estudo ambiental) e, posteriormente, utilizando-se: - o teste do χ^2 de Pearson, com nível de significância de 5%, para tabelas de contingência (2 x 2) para verificar a associação entre parasitismo e as variáveis em estudo; - o teste **t**, para comparação entre proporções ; e análise de variância para comparação da taxa de parasitismo entre os diversos grupos etários.

5 – RESULTADOS

Em visita técnica realizada à cidade, foram flagradas diversas situações que poderiam acarretar risco potencial de contaminação das fontes como a presença de animais ou de suas fezes próximas a nascentes ou do ponto de captação (Figura 9); esgoto *in natura* (Figura 10); presença de fezes humanas no ponto de captação (Figura 11 a e b); fontes localizadas em áreas densamente povoadas (Figura 12) e em áreas de pastagens e ou matas (Figuras 14 e 15). As nascentes situavam-se geralmente nas partes baixas dos terrenos ou nas encostas dos morros.

Das 42 fontes indicadas pela Prefeitura de Campos do Jordão, foram incluídas no estudo 12 delas (28,6%), de acordo com os critérios descritos no item 4.2., sendo 6 pertencentes à área urbana e 6 à área rural.

5.1 – AMOSTRAS DE ÁGUA COLHIDAS

Foram colhidas 6 amostras de 20 litros de água de cada uma das 12 fontes selecionadas, de acordo com o cronograma pré-estabelecido. O volume efetivamente filtrado de cada uma das amostras assim como o volume de sedimento (e suas variações), obtidos após filtração e processamento laboratorial das diversas amostras de água, são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Volumes efetivamente filtrados e dos sedimentos obtidos após o processamento laboratorial das amostras de água colhidas em 12 fontes naturais em Campos do Jordão, SP. (Junho de 2003 a maio de 2004).

Fontes	Volume Filtrado (Litros)		Volume dos Sedimentos (μ l)	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
1	20	20	<5	30
2	20	20	10	20
3	20	20	<5	30
4	20	20	nd	<5
5	20	20	<5	5
6	20	20	<5	10
7	20	20	<5	7
8	2*	20	30	400
9	20	20	7	110
10	4*	20	30	200
11	4*	20	90	350
12	20	20	nd	<5

* Volume máximo filtrado em ocasiões nas quais havia grande quantidade de partículas em suspensão na água.

nd = Não determinado (traços)

5.2 - EXAME PARASITOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

No período compreendido entre junho de 2003 e maio de 2004, foi possível detectar a presença de, pelo menos, um dos protozoários patogênicos em 25,0% (3/12) das fontes estudadas. Nas amostras positivas, a concentração de 0,3 oocistos de *Cryptosporidium* e 0,07 cistos de *Giardia* por litro foram encontrados nas fontes 1 e 7, respectivamente. A presença de ambos protozoários foi observada na fonte 2 com uma concentração de 0,2 oocisto e 0,1 cisto por litro.

Um total de 72 amostras de água, sendo 6 de cada fonte, foram examinadas no período de estudo, o índice de positividade para as amostras foi de 5,6% (4/72). Houve positividade nas amostras colhidas no primeiro

(junho/julho), segundo (agosto/ setembro) e sexto bimestre (abril/maio) do período de estudo (Tabela 2).

Tabela 2: Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e de cistos de *Giardia* sp. em amostras de água (n=6) colhidas bimestralmente, de 12 fontes naturais em Campos do Jordão, SP. (Junho de 2003 a Maio de 2004).

Fontes	Meses de Coleta					
	Jun/Jul I	Ago/Set II	Out/Nov III	Dez/Jan IV	Fev/Mar V	Abr/Maio VI
1	A	A	A	A	A	C+
2	C+	A	A	A	A	G+
3	A	A	A	A	A	A
4	A	A	A	A	A	A
5	A	A	A	A	A	A
6	A	A	A	A	A	A
7	A	G+	A	A	A	A
8	A	A	A	A	A	A
9	A	A	A	A	A	A
10	A	A	A	A	A	A
11	A	A	A	A	A	A
12	A	A	A	A	A	A

C+ = positividade para *Cryptosporidium* sp.

G+ = positividade para *Giardia* sp.

A = Ausência de protozoários patogênicos

Considerando a localização das fontes, o índice de positividade para aquelas pertencentes à área urbana foi de 33,3% (2/6) enquanto para as da área rural foi de 16,7% (1/6).

Os oocistos e cistos dos protozoários visualizados nas amostras positivas atenderam aos critérios de positividade quanto ao tamanho, forma, fluorescência e presença de estruturas internas visualizadas pelo DAPI e contraste de fase (Figuras 16 e 17).

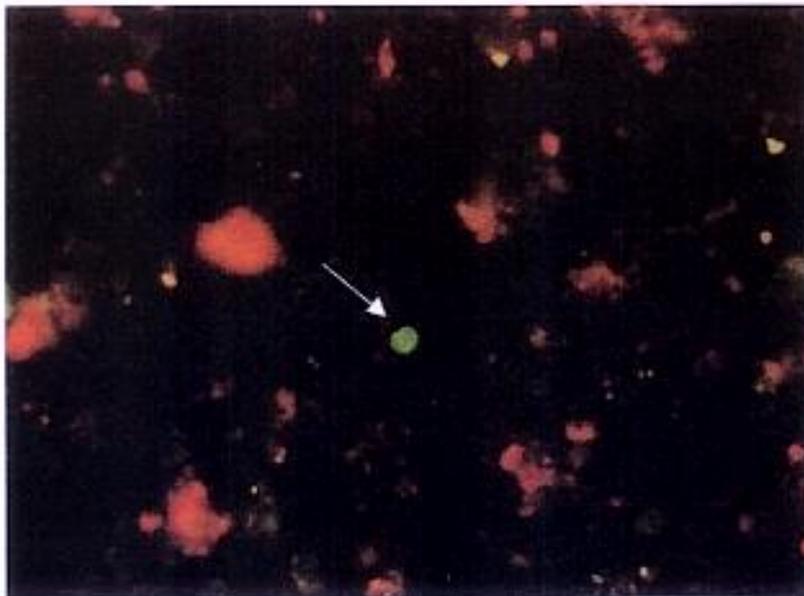


Figura 16: Oocisto de *Cryptosporidium* sp visualizado pela RID na amostra positiva da Fonte 1 (400X).



Figura 17: Cisto de *Giardia* sp visualizado pela RID na amostra positiva da Fonte 7 (400X).

5.3 – REGISTRO DE OUTROS PARÂMETROS (TEMPERATURA, PH E VAZÃO DE ÁGUA) DAS FONTES NATURAIS E DADOS CLIMÁTICOS.

Os dados referentes à vazão, pH e temperaturas da água e do ar e, precipitações hídricas obtidos durante o estudo são apresentadas nas Tabela 3 e Tabela 4.

Tabela 3: Valores médios e variação dos parâmetros (vazão, temperatura e pH da água) registrados durante as coletas e processamento laboratorial das diversas amostras de água provenientes de 12 fontes naturais de Campos do Jordão, SP. (Junho de 2003 a Maio de 2004).

Fontes	Vazão (L/min)			Temp. Água (°C)			pH	
	Variação	Média	DP	Variação	Média	DP	Variação	Mediana
1	0,8 – 4,3	1,7	1,5	14 - 15	14,5	0,5	5,6 - 6,3	5,9
2	10 – 30	16,0	8,1	13 - 15	14,3	0,8	6,5 - 6,8	6,7
3	5 – 7,5	6,3	0,9	13 - 15	14,3	0,8	5,4 - 6,2	5,6
4	2,7 - 5	4,6	0,9	14 - 15	14,8	0,4	5,8 - 6,2	6,1
5	4,3 – 6,7	5,6	0,9	13 - 19	16,0	2,3	5,8 - 6,3	6,1
6	5 – 7,5	6,2	1,1	16 - 17	16,2	0,4	5,5 - 6,0	5,8
7	6 - 10	7,2	1,7	15 - 19	15,8	1,9	5,8 - 6,2	6,1
8	15 - 20	16,2	2,2	13 - 17	14,7	1,4	6,6 - 6,9	6,7
9	8,6 - 10	9,0	1,0	12 - 18	14,2	2,3	6,4 – 6,8	6,6
10	9 - 15	12,2	2,2	14 - 18	16,3	1,4	6,3 - 6,5	6,4
11	5 - 30	15,7	13,1	12 - 15	13,2	1,2	6,6 - 6,8	6,7
12	10 - 15	12,8	2,2	14 - 15	14,2	0,4	5,9 - 6,1	6,0

DP = Desvio padrão

Tabela 4: Dados Climáticos* (Precipitação hídrica e temperatura do ar) registrados 48 e 24 horas antes da coleta e nos respectivos dias de coleta de água em fontes naturais de Campos do Jordão, S.P. (Junho de 2003 a Maio de 2004).

Data da coleta	Precipitação (mm)	Temperatura do ar		Média
		Máxima	Mínima	
26/06/2003	0,0	14,4	1,3	7,9
24h*	0,0	15,1	2,5	8,8
48h**	0,0	13,3	1,6	7,5
22/07/2003	0,0	15,4	3,2	9,3
24h*	0,0	14,0	1,8	7,9
48h**	0,0	15,4	1,8	8,6
16/08/2003	10,1	19,1	6,9	13,0
24h*	0,0	17,9	3,1	10,5
48h**	0,0	17,9	8,7	13,3
24/09/2003	0,0	21,2	6,5	13,9
24h*	0,0	21,2	7,0	14,1
48h**	0,0	23,4	6,5	15,0
15/10/2003	0,0	26,1	7,4	16,8
24h*	0,0	25,6	8,8	17,2
48h**	0,0	25,6	8,8	17,2
22/11/2003	0,0	32,0	12,0	22,0
24h*	0,0	28,6	12,2	13,1
48h**	2,4	31,0	12,0	21,5
16/12/2003	3,8	33,8	13,4	23,6
24h*	0,0	34,2	14,6	24,4
48h**	0,2	33,2	11,6	22,4
27/01/2004	3,0	25,8	13,8	19,8
24h*	0,0	27,6	14,0	20,8
48h**	1,6	27,6	15,4	21,5
17/02/2004	0,0	32,2	10,0	21,1
24h*	3,1	30,0	15,1	22,6
48h**	41,0	26,0	14,1	20,1
29/03/2004	0,0	29,1	8,0	18,6
24h*	8,7	29,1	8,0	18,6
48h**	3,0	26,8	8,9	17,9
26/04/2004	0,0	24,0	10,8	17,4
24h*	3,4	24,1	13,9	19,0
48h**	1,0	29,9	10,1	20,0
17/05/2004	0,0	24,9	0,0	12,5
24h*	2,3	24,1	8,1	16,1
48h**	26,0	21,6	12,7	17,2

* Vinte e quatro horas antes da coleta.

**Quarenta e oito horas antes da coleta.

*Dados obtidos junto ao Centro integrado de informações Agrometeorológicas (CIIAGRO - IAC).

5.4 - EXPERIMENTOS CONTROLE

5.4.1 – CONTROLE POSITIVO

A eficiência média de recuperação dos protozoários em questão, nos três experimentos controles-positivo, foi de 70,9% para oocistos de *Cryptosporidium* sp. e de 48,3% para cistos de *Giardia* sp. (Tabela 5).

Tabela 5: Condições dos experimentos controles positivo (número de (oo)cistos inoculados/L; número de oocistos esperados e efetivamente visualizados em alíquotas de 5 μ l) e eficiência de recuperação da metodologia utilizada (filtração em membranas).

Experimento controle	Inóculo Nº de (oo)cistos/L		Nº de (oo)cistos esperados		Nº de (oo)cistos visualizados *		Eficiência de recuperação (%)	
	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>
I	86,4	11,5	8,4	1,1	5,6	0,5	67,3	45,4
II	83,5	9,5	8,3	0,9	6,6	0,5	79,7	55,5
III	85,6	13,6	5,6	1,3	5,8	0,6	65,8	44,1
Valores Médios	85,1	11,5	7,4	1,1	6,0	0,5	70,9	48,3

* valor médio referente à contagem de três poços da lâmina de imunofluorescência.

5.4.2 – CONTROLE NEGATIVO

Nos experimentos controle-negativo (n=6), não foram detectados oocistos e cistos em nenhuma ocasião.

5.4.3 – CONTROLE DE QUALIDADE DA RID

No controle de qualidade da RID, as formas dos protozoários visualizadas apresentaram cor, tamanho, forma e intensidade da fluorescência ("verde-maçã brilhante") compatíveis com os critérios descritos por Rose et al., (1989) (Figura

18) enquanto no controle negativo, não foram observadas estruturas similares a oocistos e cistos.

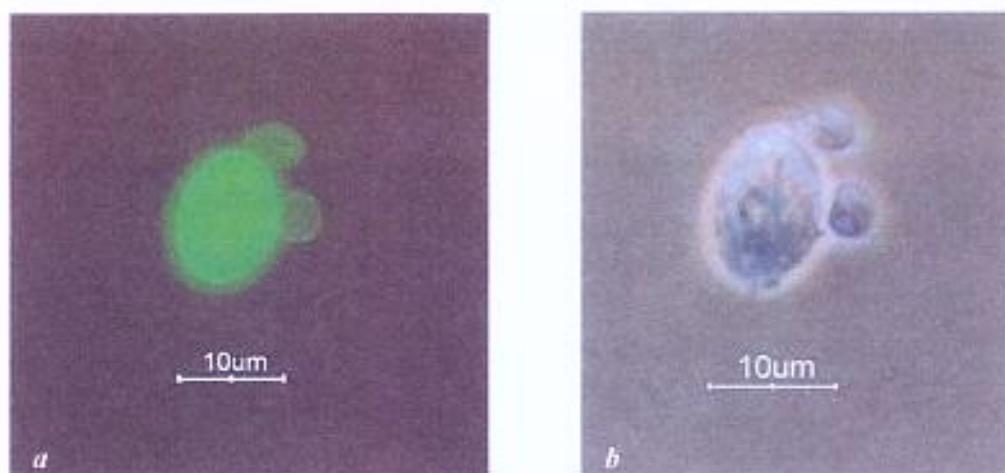


Figura 18: Oocistos de *Cryptosporidium* sp e cisto de *Giardia* sp (amostra controle-positivo); *a*- RID; *b*- contraste de fase (aumento de 600X).

5.5 – INQUÉRITO PARASITOLÓGICO

5.5.1 – DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

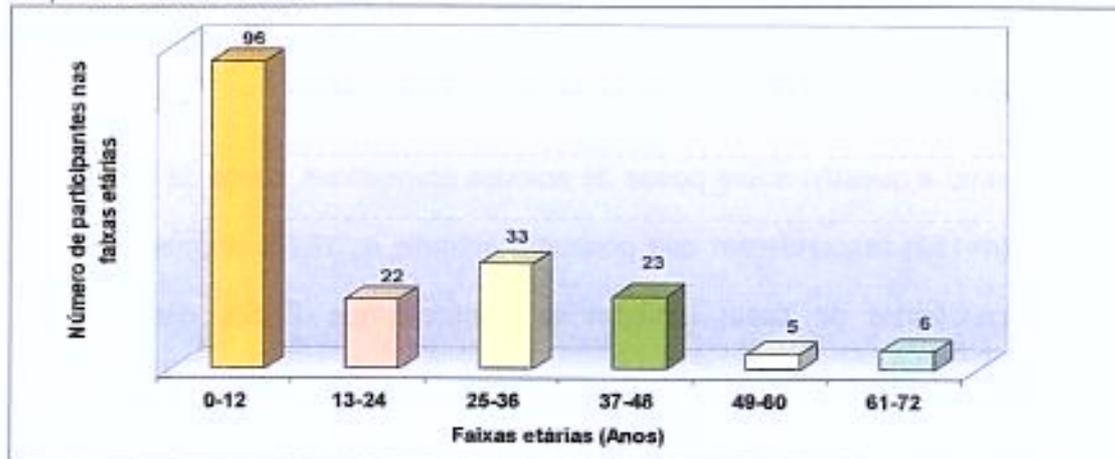
Foram convidados a participar do estudo 290 indivíduos; deste grupo, 185 (63,8%) forneceram amostras efetivando a participação no inquérito parasitológico.

Com base nas respostas dos questionários devolvidos, foi possível traçar um perfil da população que participou do inquérito parasitológico:

Do total de 185 pessoas, 82,7% (153/185) eram moradores do bairro Vila Campista e 17,3% (32/185) residiam no bairro Vila dos Mellos, ambos localizados em áreas rurais.

A faixa etária das pessoas que tiveram suas fezes examinadas variou de 0 a 72 anos sendo que na faixa etária entre 0 a 12 anos houve uma maior participação (53,0%) (Figura 19).

Figura 19: Número de pessoas que participaram do inquérito parasitológico em relação às respectivas faixas etárias.



Dos indivíduos que participaram do estudo, 38,4% (71/185) eram pessoas do sexo masculino e 60,5% (112/185) do sexo feminino. Dois indivíduos (1,1%) não indicaram o sexo ao responderem o questionário.

Com relação às condições sócio econômicas das pessoas que participaram do inquérito parasitológico, observou-se pelas respostas obtidas que em relação à renda familiar (n=121), 30,6% das famílias tinham um ganho mensal de até um salário mínimo e 69,4% tinham como renda familiar mais que 1 salário mínimo.

Quanto ao grau de instrução para os adultos, 86,2% das pessoas tinham pelo menos o primeiro grau completo (n=50). Quando considerado o grau de instrução da mãe (n=63), constatou-se que 80,8% delas tinham o primeiro grau completo.

Com relação ao tipo de moradia, 45,1% das pessoas (n=69) residiam em casas de alvenaria enquanto 54,9% (n=84) moravam em casas de madeira. Destas residências (n=152), 90,1% possuem banheiro interno e em 9,9% delas, o banheiro era localizado fora da casa; 98,0% das pessoas moravam em casas com 3 ou mais cômodos e, 59,5% relataram que convivem com de mais de 4 pessoas mesma casa.

Quanto à questão sobre posse de animais domésticos, cerca de 98,2% das pessoas (n=153) responderam que possuem animais e, 37,7% afirmaram que o animal fica dentro da casa; também se verificou que 77,5% das crianças mantinham contato com esses animais.

Nos bairros onde foi realizado o estudo, não existe sistema de rede de esgoto e, com relação ao destino das fezes, 54,2% das pessoas (n=153) responderam que estas eram descartadas em fossas, sendo o restante (45,8% das respostas) despejado diretamente nos córregos próximos às residências.

A água destinada ao consumo da população nos bairros era exclusivamente obtida nas fontes naturais e 9,2% das pessoas (n=135) costumam ferver a água antes de beber; 50,0% filtram e apenas 1,6% tinham por hábito ferver e filtrar a água antes de consumi-la.

O manuseio da terra foi relatado por 47,4% das pessoas e 34,6% afirmaram não ter o costume de usar calçados.

Em relação às parasitoses intestinais, 92,6% (n=135) das pessoas incluídas no estudo afirmaram que não haviam feito nenhum outro tipo de exame de fezes recentemente e 13,5% relataram a ingestão de vermifugo nos 30 dias anteriores à participação no estudo.

5.5.2 – ESTUDO DA PREVALÊNCIA DAS PARASITOSES

A prevalência de parasitismo intestinal observada nos indivíduos que fizeram parte do estudo foi de 49,2% (91/185). Ressalte-se que em 50,8% (94/185) não houve positividade para parasitose intestinal nos exames de fezes realizados.

Nos exames parasitológicos de fezes realizados, foi possível detectar a presença dos protozoários intestinais em 35,7% (66/185) dos indivíduos participantes, enquanto os helmintos apareceram em 22,2% (41/185). A infecção concomitante entre protozoários e helmintos foi observada em 8,6% (16/185) das pessoas.

Quando consideradas isoladamente as infecções por protozoários e por helmintos, obteve-se que 27,0% (50/185) das pessoas estavam parasitadas somente por protozoários e que 13,5% (25/185) estavam parasitadas somente por helmintos, estas diferenças não foram estatisticamente significantes ($\chi^2=0,257$; $p=0,612$). As diferentes espécies de protozoários e de helmintos intestinais observadas nos exames parasitológicos de fezes, assim como as respectivas prevalências são mostradas nas Figuras 20 e 21.

Figura 20: Prevalência das diferentes espécies de protozoários intestinais observadas após exame parasitológico de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).

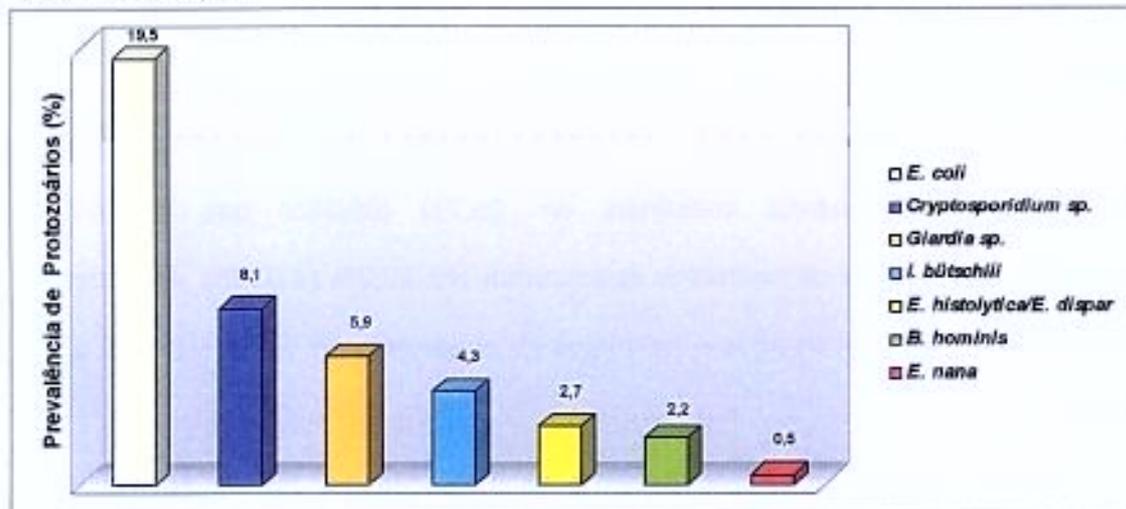
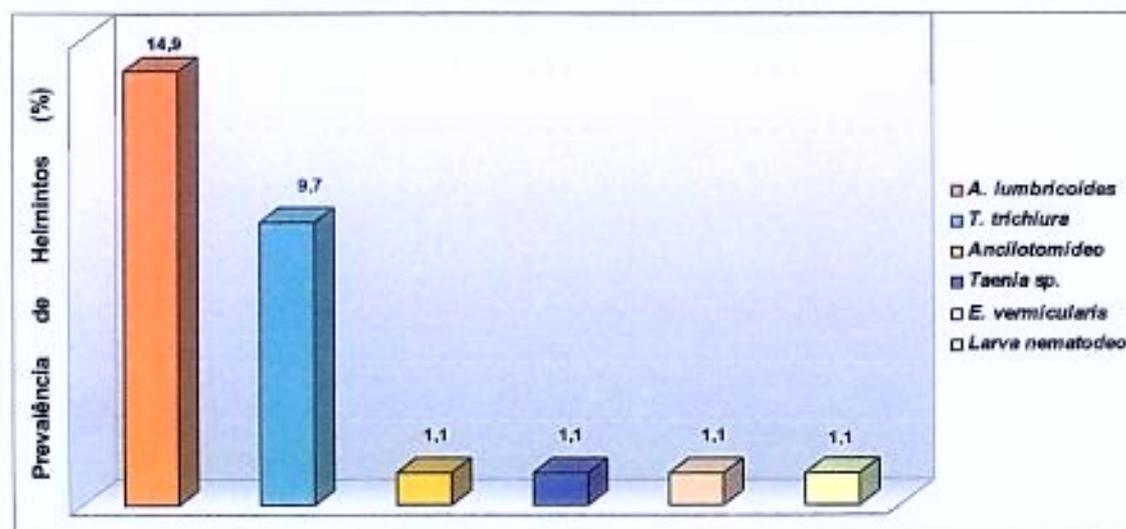


Figura 21: Prevalência das diferentes espécies de helmintos intestinais observadas após exames parasitológicos de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).

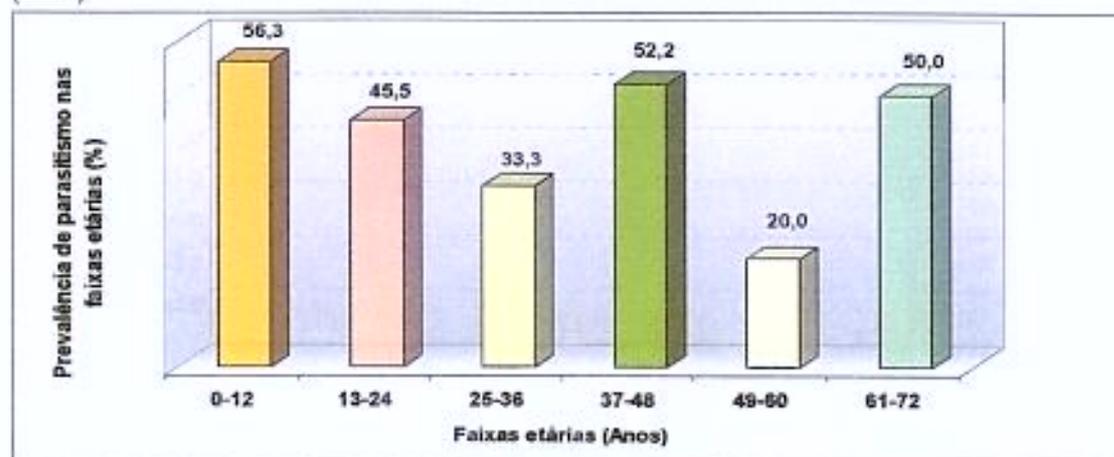


Quando considerada a ocorrência de mais de um parasito intestinal por indivíduo, o poliparasitismo esteve presente em 15,7% (29/185) dos moradores pertencentes à população em estudo. Com relação ao monoparasitismo, a taxa de prevalência foi de 33,5% (62/185). Quando comparadas as taxas de monoparasitismo e poliparasitismo houve diferença estatística significativa a 5% ($t=3,46$).

Quando considerados o sexo do indivíduo e o resultado do exame parasitológico de fezes, a positividade em pessoas do sexo masculino foi de 52,1% (37/71), enquanto para o sexo feminino foi de 46,4% (52/112) as diferenças não foram estatisticamente significantes ($\chi^2=0,562$; $p=0,453$).

Ao comparar a prevalência do parasitismo intestinal entre os diferentes grupos etários os resultados obtidos pela análise de variância não demonstraram diferenças estatísticas significantes ($F=1,438$; $p=0,213$) (Figura 22).

Figura 22: Prevalência do parasitismo observado nas pessoas de diferentes faixas etárias da população estudada (n=185) residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).



As prevalências das diversas espécies de protozoários e de helmintos que ocorreram dentro várias faixas etárias são demonstradas na Figura 23 na Figura 24 respectivamente.

Figura 23: Prevalência das diferentes espécies de protozoários intestinais observadas em relação as diferentes faixas etárias após exames parasitológicos de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).

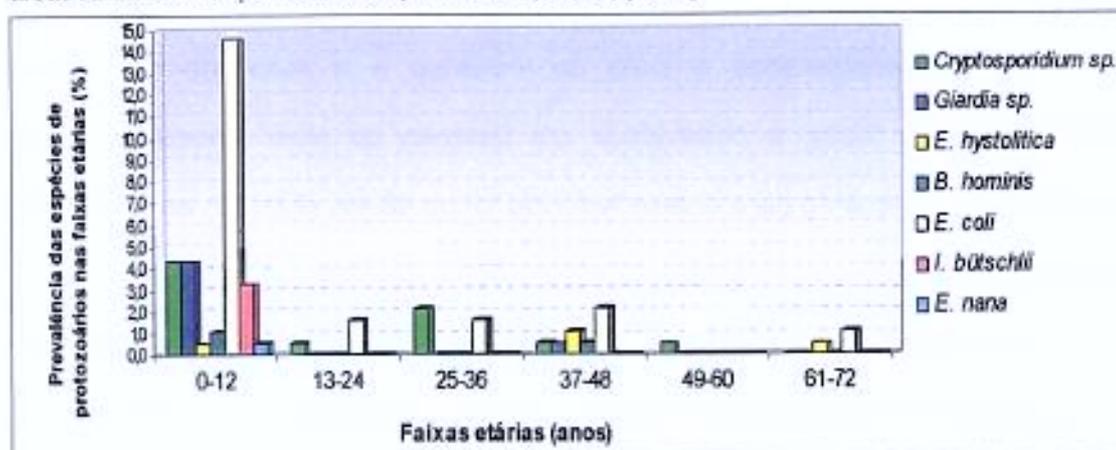
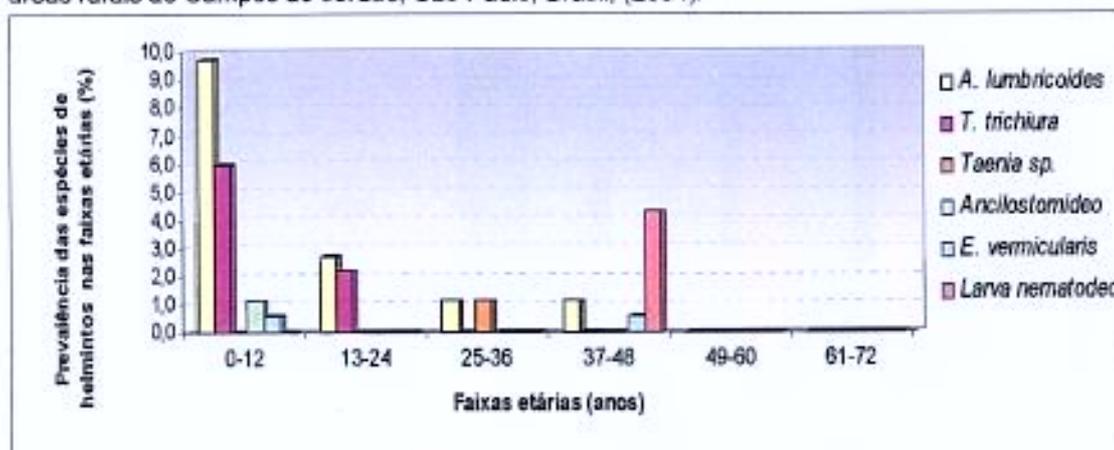


Figura 24: Prevalência das diferentes espécies de helmintos intestinais observadas em relação as diferentes faixas etárias após exames parasitológicos de fezes, em 185 pessoas residentes em áreas rurais de Campos do Jordão, São Paulo, Brasil, (2004).



6 – DISCUSSÃO

6.1 - *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. NA ÁGUA SUBTERRÂNEA

A qualidade da água que o homem usa para beber e na preparação dos alimentos deve ser o objeto do maior e mais rigoroso controle de qualidade possível sendo que a disponibilidade deste recurso está diretamente relacionada com boas condições de saúde e redução na taxa de mortalidade infantil (REBOUÇAS, 2002).

O consumo de água subterrânea como alternativa à água distribuída pelos sistemas de abastecimento urbano é bastante comum no Brasil; este fato é sustentado por questões econômicas e culturais (IBGE, 2004). Há situações em que a água subterrânea é a única fonte de abastecimento disponível para a população, principalmente aquelas que vivem em áreas rurais; essa realidade é bastante comum nos bairros rurais do município de Campos do Jordão (Silva, 2002).

A litologia do Planalto de Campos do Jordão é caracterizada, em sua maioria, por solos pouco espessos e alterações profundas das rochas do Pré-Cambriano; sua mineralogia é representada quase exclusivamente por quartzo, granito, gibbsita e caulinita; este tipo de formação geológica e o balanço hídrico positivo durante o ano todo garantem o acúmulo de água no interior das rochas e do solo promovendo a existência de numerosas nascentes na região (MONDENESI, 1980). Assim, o consumo das águas minerais naturais, de origem subterrânea e proveniente das diversas fontes ou nascentes existentes na cidade, quer na área rural quer na área urbana, é favorecido tanto pela população local

quanto pelos turistas. Este fato foi comprovado durante as coletas e visitas técnicas à cidade.

A água subterrânea é passível de contaminação por protozoários e outros microorganismos patogênicos, porém em menor extensão que a água superficial uma vez que as camadas de solo e de rochas impõem uma barreira natural para os microorganismos (SEARCY et al., 2006); a detecção de oocistos e de cistos em vários trabalhos comprova que a filtração natural do solo pode não impedir a passagem desses protozoários, ocorrendo a contaminação de nascentes, poços e aquíferos (MOULTON-HANCOCK et al., 2000; TAYLOR et al., 2004). Entretanto, a contaminação das águas originadas nas nascentes e poços é fortemente influenciada pelas águas superficiais e pelos focos de contaminação ambiental (esgoto, fossas, fezes de animais e lixo) (MACLER e MERKLE, 2000), como no caso do presente estudo.

A presença dos protozoários patogênicos *Cryptosporidium* sp. e de *Giardia* sp. em 25,0% das fontes examinadas neste trabalho é um achado bastante expressivo considerando a positividade relatada em outras pesquisas sobre a ocorrência destes protozoários em águas de origem subterrânea no Brasil. Ressalte-se que Franco e Cantúcio-Neto (2002) detectaram a presença de *Cryptosporidium* sp. em 15,4% das amostras de água mineral natural comercializadas em Campinas, SP, empregando a mesma metodologia utilizada neste trabalho. Apesar do uso de diferentes metodologias analíticas, Gomes et al. (2002), ao examinarem águas subterrâneas colhidas em fontes naturais no município de Votorantim, S.P., encontraram *Cryptosporidium* sp. em 14,3% das fontes examinadas, porém, estes autores utilizaram "técnicas alternativas" de

filtração em gaze e coloração pelo método de Kinyoun e Auramina; Gamba et al. (2000) empregando o método de floculação em carbonato de cálcio e RID, detectaram a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp em 80,0% dos poços examinados em Itaquaquecetuba, S.P., estes autores atribuíram a influência de fossas sépticas e esgotos na contaminação dos poços e das nascentes.

No Reino Unido, Hancock et al. (1998) observaram taxas de positividade em 12,0% dos locais examinados onde, oocistos de *Cryptosporidium* sp. foram detectados em 20,0% das nascentes e, 5,0% dos poços enquanto que cistos de *Giardia* sp. estavam presentes em 14,0% das nascentes e 1,0% dos poços; Nos EUA, Hibler (1988) registrou nos a presença de *Cryptosporidium* sp. em 14,0% das nascentes e 5,0% dos poços examinados; esses autores destacam que as nascentes são mais vulneráveis à contaminação pelos protozoários do que os poços uma vez que no ponto de afloramento das nascentes ou fontes, pode haver contato com focos de contaminação oriundos da superfície do solo (águas superficiais, esgotos ou fezes de animais) e, que cistos de *Giardia* sp. são menos freqüentes do que oocistos de *Cryptosporidium* sp. em águas subterrâneas; deve-se considerar neste caso, o tamanho dos cistos que dificulta o processo de percolação através do solo.

Ressalte-se que no presente trabalho, foi observada freqüência similar entre os achados de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. nas fontes examinadas em Campos do Jordão (Tabela 2), onde a disponibilidade hídrica e as condições ambientais (topografia, porosidade do solo) e os focos de contaminação (esgotos, fossas sépticas e áreas de pastagem) próximo às nascentes podem favorecer a ocorrência de ambos protozoários nas águas de origem subterrânea.

Considerando que as espécies dos protozoários *Cryptosporidium* e *Giardia* são capazes de promover a infecção mesmo em baixas doses (pois a ingestão de apenas uma forma infectante - oocisto ou cisto – pode iniciar a infecção nos indivíduos com deficiência no sistema imunológico), as concentrações de oocistos (0,1 a 0,3 /L) e de cistos (0,07 a 0,1 /L) encontradas neste trabalho são de extrema importância do ponto de vista de saúde pública. Rose et al. (1991) ao estudarem a ocorrência de *Cryptosporidium* sp e de *Giardia* sp em reservatórios de água potável, detectaram a presença de oocistos em concentrações de 0,02 por litro, destacando a relevância do achado uma vez que o consumo de água não tratada oferece risco de transmissão dos protozoários. No Reino Unido, regulamentações delimitadas pela Water Supply (Quality Water) Regulations (1999), estabelecem limites máximos de até 10 oocistos de *Cryptosporidium*/100 litros de água tratada destinada ao consumo humano.

As características geográficas da cidade de Campos do Jordão, onde os morros são predominantes, a localização das nascentes (normalmente nas encostas destes morros ou, então, nas partes mais baixas dos terrenos), quando associadas à ocupação intensa e desordenada dos bairros e às condições inadequadas de conservação das nascentes, favorecem a contaminação das águas, principalmente sob a influência das águas superficiais.

Entre as fontes positivas, no caso da Fonte 2, a presença dos protozoários foi detectada em 2 ocasiões diferentes (Tabela 2); vale ressaltar que esta fonte localiza-se em área rural (Figura 14) e, devido ao fato de que a sua caixa de reservação não está construída conforme os padrões recomendados (com bordas a 30 cm de altura do chão), a mesma permanece sob a influência de enxurradas;

adicionalmente, apresenta um histórico de positividade com valores significativos para coliformes totais (NMP/100mL* > 2419,2) e para coliformes fecais (NMP/100mL = 45,0), segundo os resultados das análises microbiológicas (SABESP, 2002).

Fatos como a positividade para coliformes totais e fecais em números superiores aos toleráveis para água de consumo humano (NMP/100mL <2,2) e a ocorrência recente de surto de hepatite A na população jordanense comprovam a vulnerabilidade das nascentes e a contaminação da água no município. Diante deste cenário, o fechamento de algumas fontes naturais foi efetuado pela Prefeitura de Campos do Jordão, principalmente daquelas localizadas em porções baixas dos terrenos e cercadas por casas sem esgotamento sanitário, seguindo recomendações técnicas de acordo com Silva (2002); no entanto, a população local reativou as fontes e passou a consumir a água dessas fontes novamente (Figura 13).

Não foi possível determinar a sazonalidade dos protozoários em relação às fontes estudadas em função do pequeno número de amostras positivas; entretanto, é importante salientar que a positividade ocorreu no: primeiro (junho/julho), segundo (agosto/setembro) e sexto (abril/maio) bimestres de coleta, coincidindo com as épocas mais frias do ano e de maior fluxo de turistas na cidade. Nestas ocasiões, os volumes de esgoto gerado e lançado *in natura* nos corpos d'água é significativamente maior, o que pode contribuir para a contaminação das águas.

* Número Mais Provável/100mL de água.

A ocorrência dos protozoários patogênicos nas fontes da área urbana (fontes 1 e 7) e da área rural (fonte 2) sugere que as condições vigentes em ambas as localidades oferecem risco de contaminação da água de origem subterrânea, principalmente no ponto de afloramento ou nas caixas de reservação. O esgoto doméstico sem tratamento, lançado nos rios e lagos ou próximos das residências, pode contaminar a água oriunda das nascentes; sabe-se que a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp. já foi relatada em 24 amostras de esgoto bruto examinadas na área urbana das cidades de São Paulo (FARIAS et al., 2002) e em amostras de lodo de esgoto na cidade de Campinas (SANTOS et al., 2004).

Por outro lado, nas áreas rurais, a contaminação das águas subterrâneas pode ocorrer devido ao processo de drenagem de fezes de animais das áreas de pastagem (Figuras 14 e 15) até as nascentes; tal evento é favorecido através das enxurradas que podem transportar as formas infectantes dos protozoários até as fontes ou reservatórios (MAWDSLEY et al., 1996, HOWE et al., 2002); ressalte-se que por ocasião da coleta de água no último período na Fonte 2, houve um registro de chuva forte na cidade, 48 horas antes da coleta (Tabela 4). De acordo com Rose et al. (2002) a pluviosidade é um dos principais fatores de dispersão dos protozoários no ambiente.

A ausência dos protozoários em algumas das fontes estudadas não implica em deficiência da metodologia empregada; deve-se considerar neste caso, a intermitência de oocistos e cistos no ambiente (HANCOCK, 1998); prevendo esta situação, foi considerado no delineamento experimental desta pesquisa, a coleta e exame de seis amostras de cada fonte durante o período de um ano.

Os resultados relativos à eficiência de recuperação obtidos nos experimentos controle positivos (70,9% para *Cryptosporidium* sp e 48,3% para *Giardia* sp.) garantiram um alto grau de confiabilidade na metodologia utilizada no caso desta pesquisa; resultados semelhantes foram obtidos por Franco e Cantúcio-Neto (2002) quando empregaram o mesmo protocolo ao detectarem a presença de *Cryptosporidium* sp. em amostras de água mineral natural comercializadas em Campinas, SP, Brasil, com concentrações que variaram entre 0,2 a 0,5 oocistos por litro.

Na escolha do método mais adequado para a detecção dos protozoários em amostras hídricas, deve-se considerar, além das características da água, o custo e viabilidade na execução dos métodos de coleta, processamento e visualização do material no laboratório (FRICKER e CRABB, 1998; AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2005).

A detecção de protozoários em amostras ambientais requer habilidade dos examinadores e conhecimento das características morfológicas das formas infectantes. Os oocistos e cistos encontrados nas amostras positivas no caso desta pesquisa atenderam aos critérios de positividade quanto à forma, tamanho, cor e intensidade de fluorescência (Figuras 16 e 17), estes critérios são indispensáveis para evitar a interpretação errônea dos resultados (SMITH, 1998).

A variedade de métodos existentes para a pesquisa dos protozoários em amostras hídricas, as características das diferentes amostras e das condições laboratoriais, no que tange os experimentos controles, são fatores que dificultam a comparação dos resultados apresentados na literatura. (FRANCO et al. 2000a; OLIVEIRA, 2005).

Szikszay e Teissedre (1981) conduziram uma pesquisa onde foram avaliadas as características físico-químicas das águas minerais no estado de São Paulo; estes autores registraram valores de pH nas faixas entre 4,7 a 5,7 e vazões de água bastante elevadas, que chegavam a 24 litros por segundo, em algumas fontes de Campos do Jordão, no início dos anos 80; ainda que pesem as dificuldades de comparação entre os dois trabalhos devido ao método empregado para medir a vazão da água, no presente estudo a vazão registrada variou de 0,8 a 30 litros por minuto; o pH registrado variou de 5,4 a 6,9 (Tabela 3); tais diferenças parecem refletir que a ação antrópica causa influências expressivas na qualidade e disponibilidade dos recursos hídricos na natureza, de acordo com Rebouças et al. (2002).

As condições geológicas e climáticas de Campos do Jordão promovem a existência de inúmeras nascentes cujas águas naturais apresentam caracteristicamente temperaturas baixas (Tabela 3); no estudo atual, a temperatura média foi de 14,9°C; deve-se ressaltar que estas temperaturas são favoráveis à sobrevivência e transporte de oocistos, cistos e outros patógenos no ambiente; entretanto, nos países tropicais não há estudos sobre o transporte dos protozoários no ambiente relacionando-os à água subterrânea (TAYLOR et al., 2004).

Pesquisas recentes têm demonstrado uma relação positiva entre as condições de higiene de uma população (em particular, acesso às facilidades sanitárias) e a qualidade microbiológica das águas subterrâneas (LUDWIG et al, 1999).

Considerando que na cidade de Campos do Jordão não há tratamento de esgoto e que nas comunidades rurais é inexistente o sistema de escoamento sanitário, são reforçadas a relevância e necessidade da pesquisa de protozoários patogênicos na água das fontes deste município devido à possibilidade de ocorrências de surtos de doenças de veiculação hídrica e, dentre essas, a criptosporidiose e giardiose, como já registrado na literatura (MACKENZIE et al., 1994; SOLO-GRABRIELE et al., 1996; HOXIE et al., 1997 FAYER et al., 2000; HOWE et al., 2002).

No que tange a garantia de água potável para o consumo, a legislação específica para águas de origem subterrânea (água mineral natural e de nascentes), a Portaria 1220/2000 dos Ministérios da Economia e da Saúde exige a ausência de parasitas e microorganismos patogênicos somente nas águas destinadas ao engarrafamento, não contemplando as águas originadas nas fontes naturais e de uso comunitário.

As condições de preservação das nascentes e dos fontanários, documentadas durante a condução desta investigação no município de Campos do Jordão colocam as fontes de água natural, tanto da área urbana (Figuras 12 e 13) como da área rural (Figuras 14 e 15), em situação de grande vulnerabilidade à contaminação por microorganismos patogênicos tais como os protozoários *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp.

Das fontes localizadas na área urbana e que fizeram parte deste estudo, foi detectada a presença dos protozoários patogênicos em 33,3% delas o que sugere que estas são mais propícias à contaminação por protozoários por estarem sob a influência de esgotos domésticos, fossas e condições impróprias de manutenção e

limpeza do fontanário, além de não haver restrição ao acesso de pessoas e de animais nas nascentes e nos pontos de captação.

As fontes da área rural apresentaram um índice de positividade de 16,7%, mas é importante salientar o precário estado de conservação da fonte onde foi detectada a presença de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. (Figura14).

A proteção das nascentes e o estado de conservação das fontes são fatores determinantes para prevenir a contaminação das águas de origem subterrânea, sendo necessária a implantação de programas de proteção das nascentes onde o conhecimento hidrogeológico da região, aliado ao empenho dos órgãos governamentais são fundamentais para a implementação e sucesso destes programas (MACLER e MERKLE, 2000; TAYLOR, 2004).

As técnicas convencionais de proteção das nascentes baseadas em delimitação de perímetros com objetivo de diminuir os focos de contaminação (esgoto, lixo e fezes de animais) das nascentes são parcialmente efetivas o que torna necessária a existência de programas mais amplos que incluam o reconhecimento dos aquíferos mediante inventário das nascentes e poços, assim como monitoramento qualitativo e quantitativo que permita comprovar a eficiência da estratégia adotada (LÓPEZ-VERA, 2002).

A qualidade da água de origem subterrânea pode ser comprometida principalmente se as nascentes estiverem sob influência de água superficial (MAWDSLEY et al., 1996, HANCOCK, et al., 1998; HOWE et al., 2002) e, as condições ambientais têm um papel fundamental na qualidade da água subterrânea, sendo que os microorganismos patogênicos existentes em esgotos e

fezes de animais são capazes de contaminar a água subterrânea (MACLER e MERKLE, 2000).

Assim sendo, a pesquisa e o monitoramento de microorganismos patogênicos veiculados pelas águas de consumo inclusive as de origem subterrânea é uma prática necessária que deve ser adotada pelos órgãos responsáveis para garantir a qualidade da água consumida por uma população.

Com o objetivo de alcançar melhores condições sanitárias nas fontes de Campos do Jordão, e propondo soluções de baixo custo, elaborou-se, neste estudo, uma proposta contendo recomendações e medidas básicas de proteção das nascentes (ANEXO III).

6.2 - PARASITOSE INTESTINAIS EM MORADORES DAS ÁREAS RURAIS

O inquérito parasitológico fecal teve por objetivo determinar as principais parasitoses intestinais às quais os moradores dos bairros rurais em questão estão expostos em decorrência da elevada contaminação ambiental ocasionada pela ausência de infraestrutura de saneamento básico e pelas precárias condições de moradia e de higiene.

No estudo da prevalência das parasitoses intestinais, efetuado junto às comunidades rurais de Campos do Jordão, obteve-se a adesão de 63,8% das pessoas inicialmente convidadas a participar do inquérito parasitológico; a perda de 36,2% do "n" amostral revela as dificuldades em contar com a colaboração voluntária e espontânea das pessoas em um estudo como este; entretanto, o

número de indivíduos que participou do inquérito foi suficiente para revelar o quadro geral das parasitoses na população estudada.

Muitos estudos sobre prevalência de parasitoses intestinais revelam que a frequência de pessoas parasitadas é inversamente proporcional à renda familiar ou ao nível sócio econômico e cultural de uma população e que está também associada à disponibilidade ou não de instalações sanitárias adequadas (LUDWIG et al., 1999; FERREIRA et al., 2000; MENDOZA et al., 2001; MELO et al., 2004; BORQUEZ et al., 2004; SORIANO et al., 2005).

No presente trabalho, quando considerada a prevalência das parasitoses e, o nível sócio econômico da população envolvida no estudo, deve-se ressaltar que o perfil sócio econômico dessas pessoas era relativamente baixo (30,6% das famílias ganhavam menos que um salário mínimo) e não dispunham de infraestrutura sanitária e água tratada; todos estes fatos são considerados na discussão dos resultados a seguir.

Assim, a prevalência das diversas parasitoses intestinais observadas neste trabalho indica que: a falta de água devidamente tratada e a ausência de sistema de escoamento sanitário podem ter contribuído para a contaminação das pessoas residentes nas comunidades rurais de Campos do Jordão considerando-se a alta taxa de prevalência das parasitoses intestinais na população estudada (49,2%). Lura et al., (2000) ao conduzirem um estudo sobre a prevalência de parasitoses intestinais em crianças de até 12 anos que também consumiam água de origem subterrânea, mostraram que 47,0% a 67,0% das crianças estavam parasitadas. Ludwig et al., (1999) relataram uma taxa de prevalência de 23,3% para enteroparasitoses ao fazer um estudo da correlação entre as condições de

saneamento básico e parasitoses intestinais em Assis, SP. Esses autores estabeleceram uma relação entre nível sócio econômico e a frequência das parasitoses observando que as infecções eram maiores nos grupos de pessoas dos níveis sócios econômicos mais baixos. Outros trabalhos realizados em várias regiões do Brasil revelam taxas de prevalências de parasitoses intestinais bastante variáveis, entre 17,0% a 82,0%, como demonstrado por Malta (2006).

Considerando que a população estudada dispunha exclusivamente de água de origem subterrânea (não tratada) e, que o consumo desta água não filtrada e não fervida foi relatado por 50,0% das pessoas que participaram do inquérito parasitológico, é de extrema importância salientar que estas condições podem contribuir para a alta prevalência dos protozoários intestinais (35,7%) observadas nesta pesquisa. O consumo de água de origem subterrânea foi fortemente associado com 47 casos de criptosporidiose humana relatados entre novembro de 1992 e fevereiro de 1993 na região nordeste da Inglaterra (BRIDGMAN et al., 1995).

Entre os protozoários patogênicos, *Cryptosporidium* sp foi o mais frequente (8,1%) (Figura 20), ressalte-se que das pessoas parasitadas com este protozoário, 53,3% eram crianças. As espécies *Giardia duodenalis* (5,9%) e *E. histolytica/dispar* (2,7%) foram o segundo e terceiro grupo de protozoários patogênicos mais frequentes, respectivamente, neste estudo. A prevalência de *B. hominis* (2,2%) encontrada neste trabalho é também significativa ainda que o potencial patogênico desta espécie para os hospedeiros imunocompetentes seja discutido (MENDOZA et al., 2001).

No que tange as prevalências das infecções causadas por protozoários, verificadas neste estudo, é interessante ressaltar que a elevada contaminação ambiental (em função da ausência de infra-estrutura de saneamento básico) parece ser a hipótese mais plausível para justificar a ocorrência deste evento. Cistos e oocistos dos protozoários são liberados já infectantes nas fezes dos hospedeiros e, portanto, a possibilidade de veiculação hídrica não pode ser descartada dada as condições de temperatura da água, favoráveis à sobrevivência dos protozoários.

É importante também enfatizar que o emprego de técnicas específicas de detecção dos protozoários intestinais e modificações no método de coloração álcool-ácido resistente (substituindo a solução aquosa de ácido sulfúrico 2% por solução de álcool-ácido-acético) no presente trabalho permitiu uma melhor visualização dos oocistos nos esfregaços fecais o que justifica a alta taxa de prevalência de *Cryptosporidium* sp. encontrada neste estudo. Normalmente o uso de técnicas específicas para concentração e detecção dos protozoários intestinais não são empregados por muitos laboratórios de análises clínicas (SODRÉ e FRANCO, 2001), este fato pode sub estimar a prevalência dos coccídios e outros protozoários intestinais nos exames parasitológicos de fezes. Das espécies não patogênicas de protozoários encontradas, a mais freqüente foi *E. coli*, (19,5%), seguida por *I. bütschlii* (4,3%) e *E. nana* (0,5%), a alta prevalência destes protozoários presentes nas fezes reforça ainda mais que as condições higiênicas e sanitárias das pessoas não são adequadas.

São características dos bairros estudados, a ocupação desordenada e a ausência de infra-estrutura sanitária; estas condições são altamente favoráveis à ocorrência e disseminação das helmintoses: assim é digno de menção o nível de contaminação fecal do peridomicílio uma vez que o despejo de esgoto é feito diretamente na superfície do solo. Além destes fatos, os indivíduos têm o hábito de cultivar hortaliças nas proximidades da residência. O clima da região é também bastante propício à sobrevivência dos ovos no ambiente. A taxa de prevalência das helmintoses observadas neste trabalho para *A. lumbricoides* (14,9%) e para *T. trichiura* (9,7%) (Figura 21) é maior que aquelas relatadas por Ludwig, (1999); este autor baseou-se nos resultados de exames de sedimentação espontânea, obtidos junto ao banco de dados do IBGE onde as prevalências tabuladas foram de 5,5% para *A. lumbricoides* e de 2,4% para *T. trichiura*.

Campos et al., (2002) utilizando os métodos de MIF e Kato-Katz encontraram taxas de prevalências superiores para *A. lumbricoides* (27,5%), porém não relatam o achado de outras espécies de helmintos. As diferenças nas taxas de prevalências ressaltam a relevância do emprego de técnicas específicas de concentração e de visualização dos parasitos intestinais.

Entretanto, mesmo não tendo-se utilizado uma técnica específica para detecção de ovos de *E. vermicularis*, a ocorrência de ovos deste helminto nas fezes reforça que a pessoas em questão carecem de noções básicas de higiene e de recursos para manter uma higiene pessoal adequada.

No presente estudo não foram observadas diferenças estatísticas significantes ($p=0,453$) relacionadas à idade ou sexo e parasitismo, significando que tanto as crianças como adultos do sexo masculino e feminino estavam igualmente expostos aos diversos fatores de risco de aquisição das infecções parasitárias, este dado é consistente com os observados por Chacin- Bonilla et al., (2000) em comunidades autóctones na Venezuela, e com os dados observados por Malta, (2006) em escolares no município de Votuporanga, S P.

Com relação às diferenças entre as taxas de prevalências observadas para os protozoários (27,0%) e helmintos (13,5%) nas comunidades rurais estudadas, não houve diferenças estatisticamente significantes ($p=0,612$) entre as pessoas parasitadas por protozoários ou por helmintos. Esta análise demonstra que as precárias condições de saneamento nestes bairros são igualmente importantes e favoráveis tanto à veiculação hídrica das formas infectantes (cistos e oocistos) dos protozoários, quanto à disseminação e maturação dos ovos dos helmintos no ambiente.

7 - CONCLUSÕES

Os resultados alcançados nessa pesquisa permitem concluir que:

1. A presença dos protozoários patogênicos *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foi confirmada em 25,0% das fontes de águas minerais naturais de Campos do Jordão, SP, Brasil.

2. As fontes da área urbana apresentaram maior positividade em relação às nascentes presentes na área rural do município de Campos do Jordão.

3. A ocorrência desses protozoários em águas provenientes das fontes naturais do município de Campos do Jordão, não obstante as baixas concentrações de oocistos (0,2 a 0,3 por litro) e de cistos (0,07 a 0,1 por litro) presentes nas amostras hídricas analisadas, assim como o consumo destas águas sem tratamento prévio, representam risco de aquisição de criptosporidiose e de giardiose para a população local e para os turistas.

4. A sazonalidade dos protozoários nas fontes examinadas não foi estabelecida em função do pequeno número de amostras positivas no período de estudo.

5. Os resultados dos experimentos controle positivos onde as taxas de eficiência de recuperação para oocistos foram de 70,9% e, para cistos, de 48,3%, demonstram que a metodologia empregada nesta pesquisa foi apropriada para a detecção dos protozoários *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. em amostras de água mineral natural.

6. As condições ambientais vigentes ao redor das fontes além do precário estado de conservação das mesmas, foram fatores que contribuíram para a veiculação e ocorrência de *Cryptosporidium* sp. e de *Giardia* sp. nas águas das nascentes incluídas no estudo e, revelam a possível influência das águas de chuva na contaminação da água de origem subterrânea.

7. A prevalência de *Cryptosporidium* sp (8,1%) e de *Giardia duodenalis* (5,9%) nas comunidades rurais é um dado extrema importância em Saúde Pública.

8. A ausência de água tratada, de sistema de escoamento sanitário e as condições sócio-econômicas das comunidades rurais incluídas no inquérito parasitológico podem ter contribuído para a elevada prevalência das parasitoses intestinais (49,2%) observada neste estudo.

8 – REFERÊNCIAS

- ADAM, R. D. Biology of *Giardia lamblia*. **Clin. Microbiol. Rev.** v.14, n. 3, p. 447 – 475, 2001.
- ALABURDA, J.; NISHIHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poços. **Rev. Saúde Pública**, v. 32, p.160-165, 1998.
- ALLEN, M. J.; CLANCY, J. L.; RICE, E. W. The plain, hard truth about pathogen monitoring. **J. AWWA**, v. 92, n. 9, p. 64-76, 2000.
- AMARAL, L. A.; FILHO, A. N.; JUNIOR, O. D. R.; FERREIRA, L. A.; BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21^a ed. Washington: American Public Health Association, Water Works Association e Water Environment Federation, 2005.
- ARMON R., GOLD D., BRODSKY M., ORON G. Surface and subsurface irrigation with effluents of different qualities and presence of *Cryptosporidium* oocysts in soil and on crops. **Water Sci. Technol.**, v. 46, n. 3, p.115-122, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS (ABAS). Disponível em: <<http://www.abas.org>>. Acesso em Janeiro de 2006.
- BARLETT, M. S.; HARPER, K.; SMITH, N.; VERBANAC, P.; SMITH, J. W. Comparative evaluation of modified zinc sulfate flotation technique. **J. Clin. Microbiol.**, v. 7, p. 524-528, 1978.
- BARR, S.C., BOWMAN, D.D., FRONGILLO, M.F., JOSEPH, S.L. Efficacy of a drug combination of praziquantel, pyrantel pamoate, and febantel against giardiasis in dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 59, p.1134–1136, 1998.
- BLACKMAN M.J., BANNISTER L.H. Apical organelles of Apicomplexa: Biology and isolation by subcellular fractionation **Mol. Biochemical Parasitol.**, v.117, n. 1, p. 11-25, 2001.
- BÓRQUEZ, CÉLIA.; LOBATO, I.; MONTALVO, M. T.; MARCHANT, P.; MARTINEZ, P. Enteroparasitosis en niños escolares del valle de Lluta, Arica, Chile. **Parasitol. Latinoam.**, v. 59, n. 3-4, p. 175-178, 2004.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. RDC n. 275, 13/09/2005.

BRASIL, Ministério da Saúde, 2000. RDC n. 54, 15/6/2000

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da União**, n. 59, Brasília, DF., 26 mar. 2004, Seção I, p. 266-270.

BRIDGMAN, S.A.; ROBERTSON, R.M.P.; SYED, Q.; SPEED, N.; ANDREWS, N.; HUNTER, P.R. Outbreak of cryptosporidiosis associated with a disinfected groundwater supply. **Epidemiol. Infect.**, v.115, n.3, p. 555-566, 1995.

CACCIÒ S.; HOMAN W.; CAMILLI R.; TRALDI G.; KORTBEEK T.; POZIO E. A microsatellite marker reveals population heterogeneity within human and animal genotypes of *Cryptosporidium parvum*. **Parasitol.**, v. 120, n. 3, p. 237-244 2000.

CACCIÒ, S. M.; THOMPSON, R. C. A.; MCLAUCLIN, J.; SMITH, H. V. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitol.**, v. 21, n. 9, p. 430 – 437, 2005.

CAMPOS, M. R.; VALENCIA, L. I. O.; FORTES, B. P. M. D.; BRAGAD, R. C. C.; MEDRONHOB, R. A. Spatial distribution of *Ascaris lumbricoides* infection. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n.1, p. 69-74, 2002.

CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R.M.B. Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em diferentes pontos do processo de tratamento de água, em Campinas, São Paulo, Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 118, p. 52-59, 2004.

CARPENTER, D. O.; CIKRT, M.; SUK, W. A. Hazardous wastes in eastern and central Europe: Technology and health effects **Environ. Health Perspect.**, v. 107, n. 4, p. 249-250, 1999.

CARVALHO-ALMEIDA, T. T.; PINTO, P. L. S.; QUADROS, C. M. S.; TORRES, D. M. A. G. V.; KANAMURA, H. Y.; CASIMIRO, A. M. Detection of *Cryptosporidium* sp. in non diarrheal faeces from children, in a day care center in the city of São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 48, n. 1, p. 27-32, 2006.

CHACIN-BONILLA, L.; SANCHEZ-CHAVEZ, Y. Intestinal parasitic infections, with a special emphasis on cryptosporidiosis, in Amerindians from western Venezuela. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 62, p. 347-352, 2000.

CHIEFFI, P. P.; SENS, Y.A.S.; PASCHOALOTTI, M. A.; MIORIN L.A.; SILVA, H.G.C.; JABUR, P. Infection by *Cryptosporidium parvum* in renal patients submitted to renal transplant or hemodialysis. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 31, n. 4, p. 333-337, 1998.

CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B.; SALOM, D.; LEWI, M. D. Prevalence of Intestinal Parasitic Infections in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome in Brazil. *Int. J. Infec. Dis.*, v. 3, n. 4, p. 203-206, 1999.

COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO – (SABESP) **Relatório de Análise Bacteriologia da água de fontes naturais – Campos do Jordão, 2002.**

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2002.** São Paulo: CETESB, p. 273, 2003. ISSN: 0103-4103. Secretaria Estadual de Meio Ambiente: Série Relatórios. Disponível em: <www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em 18 de out. 2003.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório de qualidade das águas subterrâneas no Estado de São Paulo 2001 - 2003** - São Paulo: CETESB, 2004.

do Estado de São Paulo 2004. São Paulo: CETESB, p. 273, 2003. ISSN: 0103-4103. Secretaria Estadual de Meio Ambiente: Série Relatórios. Disponível em: <www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em 18 de out. 2003.

COOPERATIVA DE SERVIÇOS, PESQUISAS TECNOLÓGICAS E INDUSTRIAIS. **Relatório Técnico do Plano de Bacias do Rio Paraíba do Sul e Serra da Mantiqueira, São Paulo, maio de 2000.**

CORSO, P. S.; KRAMER, M. H.; BLAIR K. A.; ADDISS, D. G.; DAVIS, J. P.; HADDIX, A. C. Cost of illness in the 1993 Waterborne *Cryptosporidium* Outbreak, Milwaukee, Wisconsin. *Emerg. Infec. Dis.*, v. 9, n. 4, p. 426-431, 2003.

COSTA-MACEDO, L. M.; MACHADO-SILVA, J. R.; RODRIGUES-SILVA R.; et al., Enteroparasitoses em pré-escolares de comunidades favelizadas da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, v.14, p. 851-855, 1998.

CRAUN, G. F. Waterborne giardiasis. In: MEYER, E. A. (Ed.) **Giardiasis**. 1ª ed. Amsterdam: Elsevier. v. 3. Cap. 15, p. 267-293, 1990.

CRAUN, G. F.; BERGER, P. S.; CALDERON, R. L. Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks. *J. A. WWA*, v. 89, n. 3, p. 96-104, 1997.

CRAUN, G. F.; HUBBS, S. A.; FROST, F.; CALDERON, R. L.; VIA, S. H. Waterborne outbreaks of cryptosporidiosis. *J. AWWA*, v. 90, n. 9, p. 81-91, 1998.

DA SILVA S., PEREIRA DA SILVA S., DE SOUZA GOUVEIA Y., DE OLIVEIRA DA SILVA N., MONTEIRO DE MELO M.E.R., MOURA H., HEISLER NEVES R., MACHADO-SILVA J.R. Occurrence of *Cryptosporidium* sp in fecal samples of

children less than 10 years old with clinical indication of Rotavirus **Rev. Soc. Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 3, p. 421-423, 2003.

DIAS JÚNIOR, O. **Occurrence of *Giardia* spp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts in surface waters and sewage from Araras city, São Paulo, Brazil.** 1999. Dissertação (Mestrado) – Universidade Mackenzie

EGOROV, A.; PAULAUKIS, J.; PETROVA, L.; TERESCHENKO; DRIZHD, N.; FORD, T. Contamination of waters supplies with *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* and diarrheal illness in selected Russian cities. **Int. J. Hyg. Environ. Health.**, v. 205, p. 281-289, 2002.

FARIAS, E. W. C.; GAMBA, R. C.; PELLIZARI, V. H. Detection of *Cryptosporidium* spp oocysts in raw sewage and creek water in the city of São Paulo, Brazil. **Brazil. J. Microbiol.**, v. 33, p. 41-43, 2002.

FAUST, E. C., D'ANTONI, J. S.; et al., A critical study of clinical laboratory techniques for the diagnostics of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. **Am. J. trop. Med.**, v. 18, p. 169-183, 1938.

FAYER, R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. **Vet. Parasitol.**, v. 126, p. 37-56, 2004.

FAYER, R.; ELLIS, W. Paromycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. **J. parasitol.**, v. 79, p. 771-774, 1993.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **Int. J. Parasitol.**, v. 30, p. 1305-1322, 2000.

FAYER, R; TROUT, J. M.; JENKINS, M.C. Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts stored in water at environmental temperatures. **J. Parasitol.** v. 84, p.1165-1169, 1998.

FERREIRA, M. U.; FERREIRA, C. S.; MONTEIRO, C. A.; Tendência secular das parasitoses intestinais na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n. 6, p. 73-82 2000.

FLANIGAN, T. P. Human immunodeficiency virus infection and cryptosporidiosis: Protective immune responses. **Am. J. of Tropical Medicine and Hygiene.** v. 50, n. 5, p. 29-35, 1994.

FOSTER, S.; HIRATA, R. C. A. Determinação de riscos de contaminação das águas subterrâneas, São Paulo. **Bol. Inst. Geológico, São Paulo.** n. 10, 1993.

FOX, L.M.; SARAVOLATZ, L.D. Nitazoxanide: A new thiazolide antiparasitic agent. **Clin. Infect. Dis.**, v. 40, n. 8, p. 1173-1180, 2005.

FRANCO, R. M. B.; CORDEIRO, N. da S. Giardiose e criptosporidiose em creches no município de Campinas, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 29, p. 585-591, 1996.

FRANCO, R.M.B.; CANTUSIO NETO, R.; Occurrence of cryptosporidial oocysts and *Giardia* cysts in bottled mineral water commercialized in the city of Campinas, State of São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 205-207, 2002.

FRANCO, R.M.B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 43, n. 2, p. 109-111, 2001a.

FREIRE-SANTOS, F.; OTEIZA-LOPEZ, A. M.; VERGARA-CASTIBLANCO, C. A.; ARES-MAZIAS, M. E. Effect of salinity, temperature na storage time on mouse experimental infection by *Cryptosporidium parvum*. **Vet. Parasitol.** v. 87, p. 1-7, 1999.

FRICKER, C. R.; CRABB, J. Water-borne Cryptosporidiosis: Detections Methods and Treatment Options. **Adv. Parasitol.** v. 40, p. 241-278, 1998.

GAMBA, R. C.; CIAPINA, E. M. P.; ESPÍNDOLA, R.S.; PACHECO, A.; PELLIZARI, V.H. Detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in groundwater for human consumption in Itaquaquecetuba city, São Paulo, Brazil. **Bras. J. Microbiol.**, v. 31, p. 151-153, 2000.

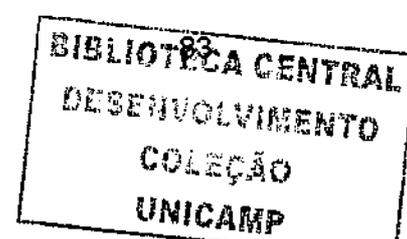
GENNARI-CARDOSO, M.L., COSTA-CRUZ, J.M., DE CASTRO, E., LIMA, L.M.F.S., PRUDENTE, D.V. *Cryptosporidium* sp. in children suffering from acute diarrhea at Uberlândia City, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.91, n. 5, p. 551-554, 1996.

GOMES, A. H. S. PACHECO, M. A. S. R. FONSCECA, Y. S. K. et al., Pesquisa de *Cryptosporidium* sp em águas de fonts naturais e comparação com análises bacteriológicas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v 61, n. 1, p. 59-63, 2002.

HACHICH, E. M.; SATO, M. I. Z.; GALVANI, ^a T.; MENEON, J. R. N.; MUCCI, J. L. N. *Giardia* and *Cryptosporidium* in source waters of São PauloState, Brazil. **Water Sci. Tecnol.**, v. 50, n. 1, p. 239-245, 2004.

HANCOCK, C. M.; ROSE, J. B.; CALLAHAN, M. Crypto and *Giardia* in US groundwater. **J. AWWA**, v. 90, n. 3, p. 58-61, 1998.

HENRIKSEN, A & POLHENZ, J. F. L. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technic. **Acta Vet. Scandinavia**, v. 22, p. 594-596, 1981.



- HIBLER, C. P. Analysis of Municipal Water Samples for Cysts of *Giardia*. **Adv. Giardia Res.** (P. M. Wallis & B. R. Hammond, Editors). Univ. of Calgary Press, Calgary, B. C. (1988). IN. HANCOCK, C. M.; ROSE, J. B.; CALLAHAN, M. Crypto and *Giardia* in US groundwater. **J. AWWA**, v. 90, n. 3, p. 58-61 1998.
- HLAVSA, M.C.; WATSON, J. C.; BEACH, M. J. Giardiasis surveillance—United States, 1998-2002. **MMWR**. CDC surveillance summaries: Morbidity and mortality weekly report. CDC surveillance summaries/ Centers for Disease Control,. v. 54, n. 1, p. 9-16, 2005.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis *mansoni*. Puerto Rico. **J. Publ. Health**, v. 9, p. 281-298, 1934.
- HOWE, A. D.; FORSTER, S.; MORTON, S.; MARSHALL, R.; OSBORN, K. S.; WRIGHT, P.; HUNTER, P. R. *Cryptosporidium* oocysts in a water supply associated with a cryptosporidiosis outbreaks. **Emerg. Infec. Dis.** v. 8, n. 6, p. 619-624, 2002.
- HOXIE, N. J.; DAVIS, J. P.; VERGERON, J. M.; NASHOLD, R. D.; BLAIR, K. ^a Cryptosporidiosis associated mortality following a massive waterborne outbreak in Milwaukee, Wisconsin. **Am. J. Pub. Health.**, v. 87, p. 2032-2035, 1997.
- HUNTER, P. R.; HUGHES, S.; WOODHOUSE, S.; RAJ, N.; SYED, Q.; CHALMERS, R. M.; VERLANDER, N. Q.; GOODACRE, J. Health sequelae of human cryptosporidiosis in immunocompetent patients. **Clin. Infect. Dis.** v. 39, n. 4, p. 504-510, 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Atlas de saneamento**. Rio de Janeiro. p. 151: mapas. 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000**.
- JENKINS, M.; BOWMAN, D. D.; FORGATY, E. A.; GHIURSE, W. C. *Cryptosporidium parvum*, oocyst inactivation in tree soil types at various temperatures and water potentials. **Soil Biol. Biochem.**, v. 34, n.8, p 101-1109, 2002.
- JORNAL CAMPOS DO JORDÃO & CIA, 07 a 13 de dezembro de 2002, Disponível na INTERNET via: <http://www.uol.com.br/jornaldecampos/491/epatite.htm>
- JORNAL CAMPOS DO JORDÃO & CIA, 09 a 15 de setembro de 2000, Disponível na INTERNET via: <http://www.uol.com.br/jornaldecampos/381/fontes.htm>

- KATO, K.; MIURA, M. Comparative examinations. **Jap. J. Parasitol.**, v 3, p. 35, 1954.
- KATZ, N.; COLELHO, P. M. Z.; PELLEGRINO, J. Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *Shistosoma mansoni* eggs added to human feces. **J. Parasitol.**, v 56, p 1032-1033, 1970.
- KOSEK, M.; ALCANTARA, C.; LIMA, A. A. M.; GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis: an update. **The Lancet Infec. Dis.**, v.1, p. 262-269, 2001.
- KRAMER, M. H; HERWALDT, B. L; CRAUN, G. F; CALDERON, R. L; JURANEK, D. D; Surveillance for waterborne-disease outbreaks - United States, 1993-1994. **MMWR. CDC surveillance summaries: Morbidity and mortality weekly report. CDC surveillance summaries/ Centers for Disease Control**, v. 45, n.1, p.1-33. 1996.
- LEVINE, N. D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa), **J. Protoz.**, v. 31, n. 1, p. 94-98, 1984.
- LINDQUIST, A. H. D.; DUFOUR, A. P.; WYMER, L. J.; SCHAEFER, F. W. Criteria for evaluation of proposed protozoan detection methods. **J. Microb. Meth.**, v. 37, p. 33-43, 1999.
- LISLE, J. T.; ROSE, J. R. Gene exchange in drinking water and biofilms by natural transformation. **Water Sci. Technol.**, v. 31, n. 5-6, p. 41-46, 1995.
- LÓPES-VERA, L. Estratégias Para Proteger Las Águas Subterráneas de la Contaminación. **Rev. Latinoam. de Hidrogeología**. n. 2 p. 9-16, 2002.
- LUDWIG, K. M.; FREI, F.; FILHO, F. A.; RIBEIRO-PAES, J. T. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. **Rev. Soc. Brasileira Med. Trop.** v. 32, n. 5, p. 547-555, 1999.
- LURA, M. C.; BELTRAMINO, D.; ABROMOVICH, B.; CARRERA, E.; HAYE, M. A.; CONTINI, L. El agua subterránea como agente transmisor de protozoos intestinales. **Arch. Agent. Pediatr.** v. 98, n. 1, p. 18-26, 2000.
- LUTZ, A. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomose, Segundo observações feitas no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v 11, p. 121-155, 1919.
- MACKENZIE, W. R.; HOXIE, N. J.; PROCTOR, M. E.; GRADUS, S. M.; BLAIR, S. M.; PETERSON, D. E.; KAZMIERCZAK, J. J.; ADIS, D. G. FOX, K. R.; ROSE, J. B.; DAVES, J. P. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. **New Engl. J. Med.**, v. 331, n. 3, p. 161-167, 1994.

MACLER, B. A.; MERCKLE, J. C. Current Knowledge on groundwater microbial pathogens and their control. **Hidr. Journal**, v. 8, p. 29-40, 2000.

MALTA, R. C. G. **Estudo Epidemiológico dos Parasitas Intestinais em Crianças no Município de Votuporanga – SP**. 2005. 110 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

MANGINI, A. C.; DIAS, R.M.; GRISI, S.J.; ESCOBAR, A.M.; TORRES, D.M.; ZUBA, I.P.; QUADROS, C.M.; CHIEFFI, P.P. *Cryptosporidium* parasitism in children with acute diarrhea **Ver. Inst. Med. Trop. S. Paulo** v. 34, n. 4, p. 341-345, July 1992.

MAWDSLEY, J. L.; BROOKS, A. E.; MERRY, R. J. Movement of the protozoan pathogen *Cryptosporidium parvum* through three contrasting soil types. **Biol. Fert. Soil**. v. 21, p. 30-36, 1996.

McCUIN, R. M.; CLANCY, J.L. Modifications to United States Environmental Protection Agency methods 1622 and 1623 for detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in water. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 1, p. 267-274, 2003.

MEDEIROS, M. I. C.; NEME, S. N.; SILVA, P.; CAPUANO, D. M.; ERRERA, M. C.; FERNANDES, S. A.; VALLE, G. R.; AVILA, F. A. Etiology of acute diarrhea among children in Ribeirão Preto-SP, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 43, n. 1, p. 21-24, 2001.

MELO, M. C. B.; KLEM, V. G. Q.; MOTA, J. A. C.; PENNA, J. Parasitoses Intestinais. **Rev. Med. Minas Gerais**. v. 14, n. 1, p. 03-12, 2004.

MENDOZA, D.; NÚÑEZ, F. Á.; ESCOBEDO, Á.; PELAYO, L. FERNÁNDEZ, M.; TORRES, D.; CORDOVI, R. A. Parasitosis intestinales em 4 círculos infantiles de San Miguel Del Padrón, Ciudad de La Habana, 1998. **Ver. Cubana Méd. Trop.** v. 53, n. 3, p. 189-193, 2001.

MONDENESI, M. C. Intemperismo e Morfogênese no Planalto de Campos do Jordão (SP) **Rev. Bras. Geo**, v. 10, p. 213-225, 1980.

MONIS, P. T. e THOMPSON, R. C. A. *Cryptosporidium* and *Giardia* - zoonoses: Fact or fiction? **Infec. Gen. Evol.** , v. 3, n. 4, p. 233-244, 2003.

MOORE, G.T.; CROSS, W.M.; MCGUIRE, D.; MOLLOHAN, C.S.; GLEASON, N.N.; HEALY, G. R.; NEWTON, L. H. Epidemic giardiasis at a ski resort. **N. Engl. J. Med.** v. 281, n. 8, p. 402-407, 1969.

MORGAN-RYAN, U. M.; FALL, A.; WARD, L. A.; HIJJAWI, N.; SULAIMAN, I.; FAYER, R.; THOMPSON, R. C.; OLSON, M.; LAL, A.; XIAO, L. *Cryptosporidium*

- hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. **J. Euk. Microbiol.**, v. 49, p. 433-440, 2002.
- MOULTON-HANCOCK, C.; ROSE, J. B.; VASCONCELOS, G. J.; HARRIS, S. I.; KLONICKI, P. T.; STURBAUM, G. D. *Giardia* and *Cryptosporidium* occurrence in groundwater. **J. AWWA**, v. 92, n. 9, p 117-123, september, 2000.
- MULLER, A. P. B. **Detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp., em águas de abastecimento superficiais e tratadas da região metropolitana de São Paulo**. 2000. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- NEWMAN, R. D.; SEARS, C. L.; MOORE, S. R.; NATARO, J. P. ; WUHID, T.; AGNEW, D. A.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. A. Longitudinal Study of *Cryptosporidium* Infection in Children in Northeastern Brazil. **J. Infect. Dis.**, v.180, p. 167-75,1999.
- NIZEYI J B, CRANFIELD M R, GRACZYK T K. Cattle near the Bwindi Imprenetable National Park, Uganda, as a reservoir of *Crptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* for local community and free-ranging gorillas. **Parasitol. Res.**, v. 88, p. 380-385, 2002.
- OKHUYSEN, P.C.; CHAPPELL, C.L.; CRABB, J.H.; STERLING, C.R.; DUPONT, H.L. Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults **J.f Infec. Dis.** v. 180, n. 4, p. 1275-1281, 1999.
- OLIVEIRA, P. V. **Ocorrência de Cistos de *Giardia* spp. e Oocisto de *Cryptosporidium* spp. no rio Atibaia, bacia do rio Piracicaba, Campinas, São Paulo**, 2005, 87 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.
- OSHIRO, E. T.; DORVAL, M. E. C.; NUNES, V. L. B.; SILVA, M. A. A.; SAID, L. A. M. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* among children of less than 5 years of age in the urban zone of Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil, 1996. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, p. 277-280, 2000.
- PHILIPPI JR, A. Saneamento, Saúde e Ambiente: Fundamentos para um desenvolvimento sustentável. Editora Manole, 2005.
- QUINTERO-BETANCOURT, W.; PEELE, E. R.; ROSE, J. B. *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis*: a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites. **J. Microb. Meth.**, v. 49, n. 3, p. 209-224, 2002.
- RÉ, A. L. **Qualidade Microbiológica e Parasitológica de águas de consumo humano do município de Araras S P, com ênfase na pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp e cistos de *Giardia lamblia***. São Paulo, 1999. 132 p.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, SÃO PAULO.

REBOUÇAS, A. C. Água Doce no Mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B. e TUNDISI, J.G. (Org.). **Águas Doces no Brasil – Capital Ecológico, Uso e Preservação**. 2ª ed. São Paulo: Editora Escrituras. Cap. 1, p. 1-37, 2002.

RIBEIRO, P. C.; PILE, E.; QUEIROZ, M. M. C.; NORBERG, A. N.; TENÓRIO, J. R. O. Cryptosporidiosis occurrence in HIV+ patients attended in a hospital, Brazil. **Rev. Saúde Pública**. v. 38, n. 3, p. 469-470, 2004.

ROBERTSON, L. J.; CAMPBELL, A. T.; SMITH, V. H. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 58, p. 3494-3500, 1992.

ROCHELLE, P.A.; MARSHALL, M.M.; MEAD, J.R.; JOHNSON, A.M.; KORICH, D.G; ROSEN, J.S; DE LEON, R. Comparison of *in vitro* cell culture and a mouse assay for measuring infectivity of *Cryptosporidium parvum*. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 68, n. 8, p. 3809-3817, 2002.

ROSE, J. B. Environmental ecology of *Cryptosporidium* and public health implications. **An. Rev. Public Health**, v. 18, p. 135-61, 1997.

ROSE, J. B.; GERBA, CHARLES, P.; JAKUBOWSKI, W. Survey fo Potable Water Supplies for *Cryptosporidium* an *Giardia*. **Environ. Sci. Technol.** v. 25, n. 8, 1991.

ROSE, J. B.; HUFFMAN, D. E.; GENNACCARO, A. Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. **FEMS Microb. Rev.**, v. 26, p. 113-123, 2002.

ROSE, J. B.; LANDEEN, L. K.; et al., Evaluation of Immunofluorescence Techniques for Detection of *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* Cysts from Environmental Samples **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 55, n. 12, p. 3189-3196, 1989.

SANTOS, L. U.; BONATTI, T. R.; CANTUSIO NETO, R.; FRANCO, R. M. B. Occurrence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in activated sludge samples in Campinas, SP, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 46, n. 6, p. 309-313, 2004.

SCHNACK, F. J.; FONTANA, L. M.; BARBOSA, P. R.; SILVA, L. S. M.; Baillargeon, C. M. M.; Barichello, T.; Povoá, M. M.; Cavasini, C. E.; MACHADO, R. L. D. Enteropatógenos associados com diarreia infantil (< 5 anos de idade) em amostra da população da área metropolitana de Criciúma, Santa Catarina, Brasil. **Cad. Saúde Públ.** v. 19, p. 1205-1208, 2003.

- SEARCY, K. R.; PACKMAN, A.L; ATWILL, E.R; HARTER, T. Deposition of *Cryptosporidium* oocysts in streambeds. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 72, n. 3, p. 1810-1816, march 2006.
- SHEPHERD, K. M.; WYN-JONES, A. P. An evaluation of methods for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 62, n. 4, p. 1317-1322, 1996.
- SILVA, A. G. Secretaria do Meio Ambiente – Prefeitura Municipal de Campos do Jordão. **[Mensagem Pessoal]**, <agambiental@terra.com.br> recebida em dezembro de 2002.
- SILVA, F. V.; KAMOGAWA, M. Y.; FERREIRA, M. M.C.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Discriminação geográfica de águas minerais do Estado de São Paulo através da análise exploratória. **Eclet. Quím.**, São Paulo, v. 27, n. spe, 2002.
- SLIFKO, T.R.; FRIEDMAN, D.; ROSE, J.B.; JAKUBOWSKI, W. An *in vitro* method for detecting infectious *Cryptosporidium* oocysts with cell culture. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 63, p. 3669-3675, 1997.
- SMITH H V, CAMPBELL B M, PATON C A AND NICHOLS R A B. Significance of Enhanced Morphological Detection of *Cryptosporidium* sp. Oocysts in Water Concentrates Determined by Using 4',6'-Diamidino-2-Phenylindole and Immunofluorescence Microscopy. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, p. 5198-5201, 2002.
- SMITH H.V., NICHOLS R.A.B., GRIMASON A.M. *Cryptosporidium* excystation and invasion: Getting to the guts of the matter **Trends in Parasitol.**, v. 21, n. 3, p. 133-142, 2005.
- SMITH, H. V. e GRIMASON, A.M. *Giardia* and *Cryptosporidium*. In: **The Handbook of Water and Wastewater Microbiology** (Mara, D. and Horan, N.J. eds), pp. 696–755, Academic Press, 2003. *Apud* Fayer, R.; Dubey, J. P.; Lindsay, D. S. Zoonotic protozoa: from land to sea. **Trends in Parasitol.**, v. 20, N. 11, 2004.
- SMITH, H. V.; ROSE, J.B. Waterborne cryptosporidiosis: current status. **Parasit. Today**, v. 14, n.1, p. 14-22, 1998.
- SODRÉ F.C.; FRANCO, R.M.B. Novos aspectos sobre um tema bem conhecido: *Cryptosporidium*. **Rev. Bras. An. Clin.**, v. 33, n. 2, p. 97-107, 2001.
- SOLO-GABRIELE, H.; AGER JR, A. L.; LINDO, J. F.; DUBÓN, J. M.; NEUMEISTER, S. M.; BAUM, M. K.; PALMER, C. J. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in water supplies of San Pedro Sula,

- Honduras. **Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am. J. public health**, v. 4, n. 6, p. 398-400, 1998.
- SOLO-GABRIELE, H.; NEUMEISTER, S. US outbreaks of cryptosporidiosis. **J. AWWA**, v. 88, n. 9, p. 76-86, 1996.
- SORIANO, S. V.; MANACORDA, A. M.; PIERANGELI, N. B.; NAVARRO, M. C.; GIAYETTO, A. L.; BARBIERI, L.M.; LAZZARINI, L. E.; MINVIELLE, M. C.; GRENOVERO, M. S.; BASUALDO, J.A. Parasitosis intestinales y su relacion con factores socioeconómicos y condiciones de habitat en niños de Neuquén, Patagonia, Argentina. **Parasitol. Latinoam.** v. 60, n. 3-4, p. 154-161, 2005.
- SZIKSZAY, M.; e TEISSEDE, J. M. "Águas mineris" no Estado de São Paulo. **Bol. IG - USP.** v. 12, p. 1-22, 1981.
- TAYLOR, R.; CRONIN, A.; PEDLEY, S.; BARKER, J.; ATKINSON, T.; The implications of grounwater velocity variations on microbiol transport and wellhead protection – review of field evidence. **FEMS Microb. Ecol.** v. 49, p. 17-26, 2004.
- TEDESCO, M.; REGINATO, P. A. R. Contaminação Bacteriológica do Aquífero Livre da Formação Serra Geral na Região Nordeste do Estado do Rio Grande do Sul. In: XXIII Congresso Brasileiro de Águas subterrâneas (ABAS) [Cuiabá] [MT] 19-22 out. **Anais...** p. 1-10, 2004.
- TEIXEIRA, J. C.; HELLER, L. Fatores ambientais associados às helmintoses intestinais em áreas de assentamento subnormal, Juiz de Fora, MG. **Eng. Sanit. Ambient.** v. 9, n. 4, p. 301-305, 2004.
- THEODOS, C. M.; GRIFFITHS, J. K.; D'ONFRO, J.; FAIRFIELD, A.; TZIPORI, S. Efficacy of Nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in Cell Culture and in Animal Models. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 42, n. 8, p. 1959-1965, 1998.
- THOMPSON, A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. **Vet. Parasitol.** v.126, p. 15-35, 2004.
- THOMPSON, R. C. A. Giardiasis as re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. **Int. J. Parasitol.**, v. 30, p. 1259-1267, 2000.
- TOMPS, S R. **Estudo Epidemiológico da criptosporidiose e sua associação com as condições de saneamento ambiental no distrito municipal de Perus, São Paulo.** 103p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Mackenzie, São Paulo. 1998.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Method 1622: *Cryptosporidium* in water by filtration/IMS/FA.** United States

Environmental Protection Agency, Washington, D.C. Dec. de 1997. Disponível em: <www.epa.gov/nerlcwww/1622ap01.pdf>. Acesso em junho de 2003.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA.** United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C. Abril de 1999. Disponível em: <www.epa.gov/nerlcwww/1622ap01.pdf>. Acesso em junho de 2003.

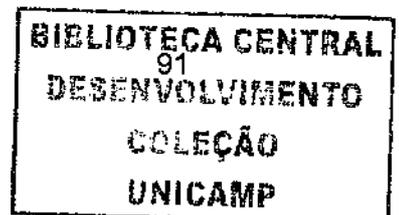
UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **National primary drinking water regulations: enhanced surface water treatment requirements; proposed rule.** United States Environmental Protection Agency, Washington, D.C. Jul de 1994.

WIEBBELLING, ADILIA M.P., MEZZARI, ADELINA, SCHENATO, SCHENATO, L. K.; RICHTER, V. T.; BOHME, E. S. Evaluation of knowledge about cryptosporidiosis in a sample of physicians from Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** v. 38, n. 2, p. 119-123, 2002.

WILLIS, H. H. A simple levitation method for detection of hookworm ova. **Med. J. Aust.**, v. 29, p. 375-376, 1921.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, U.; UPTON, S. J. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 17, n.1, p. 72-97, jan. 2004.

ZAJAC, A.M., LABRANCHE, T.P., DONOGHUE, A.R., CHU, T.C. Efficacy of fenbendazole in the treatment of experimental *Giardia* infection in dogs. **Am. J. Vet. Res.** v. 59, p. 61-63, 1998.



9 – ANEXOS

9.1 - ANEXO I

QUESTIONÁRIO - INQUÉRITO PARASITOLÓGICO

1. Nome:.....

2. Idade:..... 2a: Natural de:.....

3. Sexo: () Masc. () Fem.

4. Bairro: () Campista () Vila dos Mellos.

5. Grau de instrução: () 1º grau () não alfabetizado.

6. Se criança, grau de instrução da mãe: () 1º grau não alfabetizada () Outros ()

7. Renda familiar: () 1 salário mínimo () mais que 1 salário.

8. Atividade ou emprego atual:.....

9. Nº de pessoas que moram na casa: () até 4 () mais que 4 pessoas.

10. Tipo de moradia: () alvenaria () madeira .

11. Nº de cômodos/casa: () 2 () 3 ou mais

12. Banheiro é: () dentro da ca () fora da casa

13. Destino das fezes: () esgoto/fossa () córrego

14. Muro delimitando quintal/jardim: () sim () não.

15. Lixo: () tem coleta municipal () não tem coleta municipal.

16. Tem animais domésticos: () sim () não.

17. Animal fica dentro de casa: () sim () não.

18. Criança: contato com animal: () sim () não.

19. Bebe água : () da fonte () da rede pública/SABESP.

20. Uso da água : () cozinhar () beber () só p/a lavar roupa () banho

21. Armazena água? () não () sim. Onde?..... Fora de casa?..... Recipiente aberto?.....

22. Cuidado c/água de beber: () ferve () filtra

23. Tomou vermífugo/30 dias? () sim () não

24. Teve diarreia/30 dias? () sim () não.

25. Costuma andar descalço? () às vezes () não.

26. Costuma mexer com terra: () sim () não.

27. Fez exame de fezes recente/te: () sim () não.

28. Qual resultado: () negativo () positivo. Qual?.....

29. Está tomando alguma medicação? Qual?.....

9.2 - ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA
LABORATÓRIO DE PROTOZOOLOGIA



Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP
Cidade Universitária "Zeferino Vaz", s/n 13083-970 – Campinas – SP
☎(0**19) 3788-6289 / 3788-6285 Fax: (0**19) 32893124

Termo de Consentimento para o Inquérito Parasitológico

Após esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa do Aluno Nilson Branco (RA: 013081) realizado na Cidade de Campos do Jordão, autorizo a coleta seriada de fezes e posterior realização dos exames parasitológicos no departamento de Parasitologia da Universidade Estadual de Campinas.

Estou ciente de que a participação nesse estudo é livre e espontânea, e que os resultados serão fornecidos e de que não haverá nenhum prejuízo para mim e meus familiares.

Nome: _____ RG: _____

9.3 - ANEXO III



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA
Cep: 13083-970 – Campinas – SP
☎(0**19) 3788-6280 / 3788-6281 Fax: (0**19) 3788-6282

Cidade Universitária "Prof. Zeferino Vaz"

SUGESTÕES PARA A MANUTENÇÃO DOS POÇOS E RESERVATÓRIOS REFERENTES À CAPTAÇÃO DE ÁGUA DAS FONTES DE CAMPOS DO JORDÃO:

1 - Comentários gerais:

Geralmente, as águas subterrâneas apresentam características físico-químicas compatíveis com os padrões de potabilidade e devido à ação de filtração lenta através das camadas permeáveis, apresentam-se com baixos teores de cor e turbidez e, do ponto de vista da microbiologia, as águas subterrâneas apresentam-se isentas de bactérias, a não ser que o lençol esteja sendo atingido por algum foco de poluição nas proximidades do ponto de captação e, do ponto de vista sanitário, os poços ou seus reservatórios devem ficar afastados convenientemente de possíveis fontes de contaminação tais como instalações ou estruturas que contenham ou veiculem líquidos contaminantes.

2 - Comentários específicos:

Com base nas observações feitas durante as coletas referentes à tese de Mestrado "AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. E DE *GIARDIA* SPP. EM ÁGUA DE CONSUMO PROVENIENTE DE FONTES DE USO POPULAR NA CIDADE DE CAMPOS DO JORDÃO, S P" ainda em andamento sendo realizada por Nilson Branco sob a orientação da Dra. Regina Maura Bueno Franco e, visitas técnicas a cidade de Campos de Jordão, sugere-se a adoção das seguintes medidas para evitar a contaminação das fontes naturais:

2.1- Observar as distâncias (horizontais) mínimas de afastamento das nascentes e pontos de reservação a instalações potencialmente poluidoras: - 30 metros (no caso de privadas secas, fossas negras, redes de irrigação superficial de esgotos, lagoas de oxidação); - 15 m (fossas sépticas, canalizações de esgoto, esterqueiras, depósitos e despejos de águas servidas). Segundo ABNT, na norma NBR 7229/1993- "Projeto, construção e operação de sistema de tanques sépticos", a distância horizontal mínima entre fossas sépticas e poços freáticos ou corpos de água de qualquer natureza deve ser 15 m. O manual de Saneamento da FUNASA, sugere mesma distância (15 m) para fossas sépticas e acrescenta que deve ser mantida distância mínima de 45 m dos demais focos de contaminação, como chiqueiros, estábulos, valões de esgoto, galerias de infiltração e outros; - 5 m (galerias pluviais, escavações e edifícios de um modo geral).

No caso da fonte da Amizade, as caixas de passagens estão localizadas próximas à calçada de via pública e em local onde animais eqüinos tem acesso; ao redor das fontes da Vila Nadir, da Vila Santo Antônio e da fonte localizada entre os bairros Monte Carlo e Pumas, há a presença de detritos doméstico e de lixo; a limpeza do terreno ao redor da fonte ou ponto de captação é uma medida recomendável visando impedir a entrada de material contaminado (segundo Manual de Saneamento, Funasa, Ministério da Saúde); a construção de calçadas ao redor da caixa de passagem, reservatório ou da fonte visa evitar a formação de lamaçal na superfície da área em questão e impedir a infiltração das águas de superfície. Assim, em poços ou quando o reservatório for enterrado (manter mínimo de 50 cm sobre a superfície do solo), impermeabilizar a parede (para poços: - 3 metros em direção ao fundo), construir plataforma (calçada) de concreto com 1 metro de largura, em volta do poço ou reservatório e, construir valetas no entorno para afastamento de águas de enxurrada.

O Decreto Estadual 32955/91- que regulamenta a lei n. 6134/98 a qual dispõe sobre a preservação

dos depósitos naturais de águas subterrâneas do Estado de São Paulo, propõe o estabelecimento de áreas de **proteção de poços nascentes e outras captações**, se julgado necessário, através da instituição do Perímetro Imediato de Proteção Sanitária, abrangendo raio de 10 metros, a partir do ponto de captação, cercado e protegido com telas. Ainda segundo o mesmo, os poços e as captações deverão ser dotados de laje de proteção sanitária para evitar a entrada de poluentes. Estas lajes devem ser de concreto armado, ter declividade do centro para as bordas, espessura mínima de 10 cm e área não inferior a 3 m².

Os pontos de captação devem estar em nível superior aos focos de contaminação, como fossas, depósitos de lixo, estrumeiras, currais, pocilgas e galinheiros.

2.2 - Correta manutenção dos reservatórios: na área rural, na maioria das fontes visitadas, os reservatórios apresentavam-se em condições bastante precárias, inclusive com tampas de cimento ou tábuas onde se observava rachaduras e frestas, permitindo a entrada de águas de enxurradas e de chuvas, além de pequenos animais e insetos (**fontes dos bairros Matadouro, Campista, Gavião Gonzaga e Vila dos Mellos**); também as canalizações que conduziam a água que aflora à superfície eram inadequadas do ponto de vista sanitário; assim, sugere-se a utilização de caixas d'água ou construção de reservatório em alvenaria, com cimento e concreto (De acordo com FUNASA, 2004, em "Elaboração de Projeto de Melhorias Sanitárias Domiciliares – Orientações Técnicas", os reservatórios ou caixas de passagem devem ser de fibra de vidro, polietileno, pré-fabricados de cimento armado ou alvenaria, não devendo ser utilizado material com amianto na sua composição), e ainda de acordo com as normas apresentadas no Manual de Saneamento, FUNASA, MS, mantendo-se uma altura da caixa de reservação de 50 a 80 cm a partir da superfície do solo.

Segundo ABNT, na norma NBR 12244/1992- "Construção de poço para captação de água subterrânea", a borda superior deve estar no mínimo 50 cm sobre a superfície do solo). A laje do reservatório também deve ter declividade do centro para a borda (sugestão: 3%), bem como o correto vedamento das tubulações (de coleta à distribuição) da água reservada (a adução da água por meio de mangueiras flexíveis deve ser executada com o mínimo de emendas possíveis, e quando estas se fizerem necessárias, usar conexão adequada para mangueiras flexíveis (conexão rígida que liga mangueiras pela face interna) e braçadeiras na face externa para garantir a estanqueidade); as tampas devem ser de concreto ou madeira, em boas condições, deixando-se abertura de inspeção (mínimo 0,8 X 0,8m e com rebordo) e tampa de encaixe (tampa lacrada com chapa soldada ou tampa rosqueável).

3 - Impedir acesso de animais: em algumas fontes (**Elefantinho e Amizade**), o acesso de animais ao local do ponto de reservação foi constatado, sendo visíveis fezes frescas ao redor do reservatório ou na tampa do mesmo; recomenda-se a construção de cercas (com telas) ou muros delimitando estas áreas, impedindo o acesso e o trânsito de pessoas e ou animais ao local.

4 - No caso de algumas fontes (Vila Nadir, da Amizade, Monte Carlo, Santo Antônio e Simão) o fontanário é construído em alvenaria e revestido de azulejos e rejunte que comprometem a qualidade da água; recomenda-se utilizar inox para estes fins. As caixas de passagens também estão mal-conservadas, sendo necessárias melhorias como as descritas no item 2 (Limpeza periódica das fontes e reservatórios e desinfecção com solução clorada. As caixas de reservação ou passagem devem ser dotadas de extravasor com tela, cano de descarga de fundo provido de registro, localizado abaixo da saída para abastecimento, para limpeza e retirada de partículas sedimentadas).

Em captação de fonte de encosta, usar caixa de tomada com paredes impermeabilizadas, laje de proteção além do reservatório, tampa de inspeção e dispositivos para limpeza, canaletas na parte superior do terreno para afastamento de águas de enxurrada, proteção da área com cerca de tela (Ver Figura Manual de Saneamento - FUNASA).

Referências:

Associação Brasileira de Normas Técnicas. Projeto de construção e operação de sistema de tanques sépticos – NBR 7229. Rio de Janeiro: Abnt; 1993.

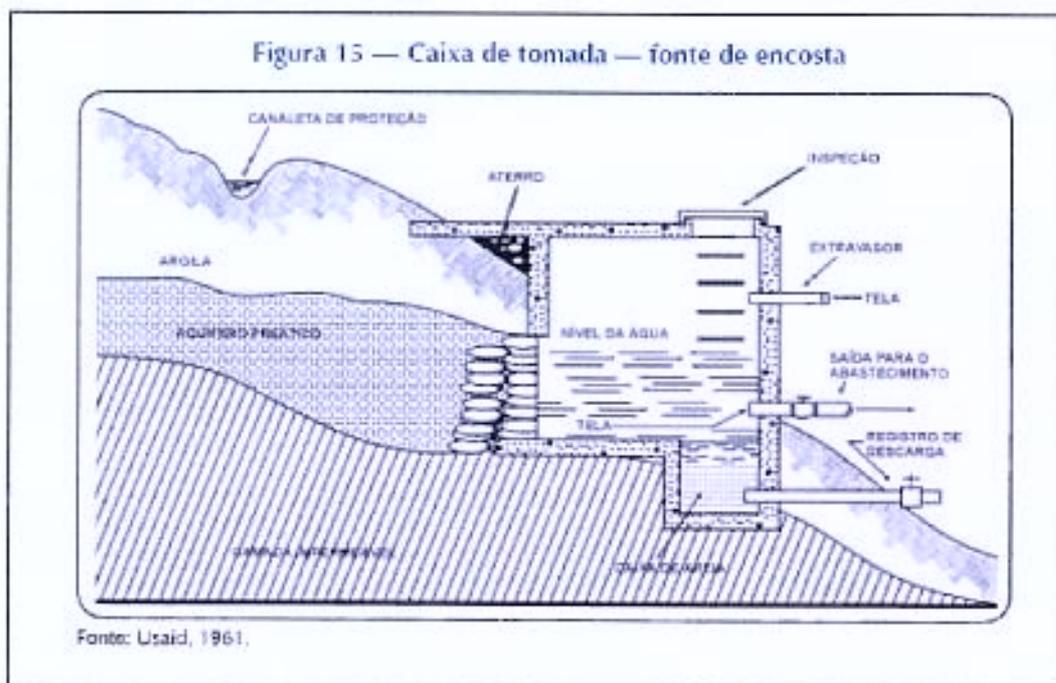
Associação Brasileira de Normas Técnicas. Tanques sépticos – unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos: projeto, construção e operação – NBR 13969. Rio de Janeiro: Abnt; 1997.

Fundação Nacional de Saúde. Modelos utilizados nas ações de melhorias sanitárias domiciliares: manual de instruções. Brasília: FNS; 1998*.

Fundação Nacional de Saúde. Oficina municipal de saneamento. Brasília: Funasa; 2000*.

Fundação Nacional de Saúde. Brasil. Orientações técnicas para apresentação de projetos de sistemas de abastecimento de água. 2.ed. – Brasília: Funasa, 2003.24p*.

* Disponíveis no site <http://www.funasa.gov.br/> (Publicações, Engenharia de Saúde Pública)

**Responsabilidade Técnica:**

Nilson Branco
Aluno do Curso de Pós Graduação em Parasitologia

Dra. Regina Maura Bueno Franco
Orientadora

MSc. Mariana de Salles Tosetto
Faculdade de Engenharia Civil da UNICAMP

9.4 – ANEXO IV

9.4.1 – FIFURAS



Figura 9: Ponto de captação Fonte nº 07 de água em área de pastagem com fezes de animal



Figura 10: Esgoto lançado *in natura* na rua próxima a Fonte nº 01



Figura 11: Fezes humanas sobre o ponto de captação (a); caixa de passagem localizada na calçada (b), Fonte nº 07.



Figura 12: Fonte de água natural na encosta do morro (Fonte nº01)



Figura 13: Fonte utilizada após ser interditada pela prefeitura (Fonte nº06)



Figura 14: Ponto de captação localizada em uma gruta no interior da mata (Fonte nº 02).



Figura 15: Fonte nº 10; (a) reservatório de água; (b) animais pastando.