

GRAZIELE MENEZES FERREIRA DIAS

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DA BACIA DO RIBEIRÃO
SÃO BARTOLOMEU, VIÇOSA - MG: ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA,
AMBIENTAL E ESPACIAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

D541q
2007

Dias, Grazielle Menezes Ferreira, 1983-
Qualidade microbiológica da água da bacia do Ribeirão
São Bartolomeu, Viçosa - MG: análise epidemiológica,
ambiental e espacial / Grazielle Menezes Ferreira Dias.
– Viçosa, MG, 2007.
xxiii, 136f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Inclui apêndice.
Orientador: Paula Dias Bevilacqua.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 121-130.

1. Epidemiologia. 2. Água - Qualidade - São
Bartolomeu, Ribeirão, Bacia (MG). 3. Água - Microbio-
logia. 4. Zoonoses. 5. *Giardia*. 6. *Cryptosporidium*.
7. Saúde pública - Viçosa (MG). I. Universidade Federal
de Viçosa. II. Título.

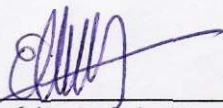
CDD 22.ed. 614.43

GRAZIELE MENEZES FERREIRA DIAS

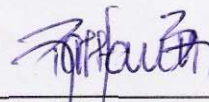
**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DA BACIA DO RIBEIRÃO SÃO
BARTOLOMEU, VIÇOSA-MG: ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA,
AMBIENTAL E ESPACIAL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

APROVADA: 13 de agosto de 2007.



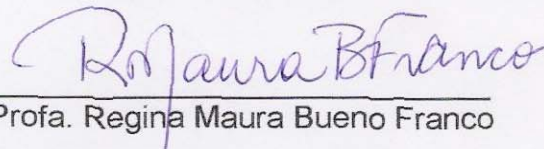
Prof. Elpidio Inácio Fernandes Filho
(Co-orientador)



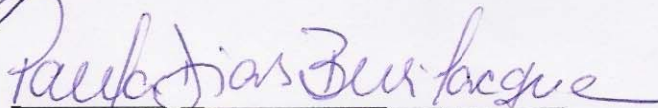
Prof. Rafael Kopschitz Xavier Bastos
(Co-orientador)



Prof. Joaquín Hernán Patarroyo Salcedo



Profa. Regina Maura Bueno Franco



Profa. Paula Dias Bevilacqua
(Orientadora)

"A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável."

(Galileu Galilei)

Dedico este trabalho aos meus pais, Regina e Luiz, e ao meu marido, Wilde, que sempre me apoiaram e assumiram os meus sonhos como seus.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre foi o meu apoio, agradeço por ter enviado Seu Filho ao mundo, pelo Seu amor incondicional e pela Sua graça que excede todo entendimento.

Aos meus pais, Regina e Luiz, agradeço pelo exemplo e pelo ensino que carregarei por toda a vida. Também agradeço pelo empenho, esforço e incentivo na formação profissional dos filhos. Registro minha eterna gratidão e admiração por vocês.

Ao meu marido, Wilde, registro minha admiração pelo seu caráter como ser humano e agradeço por seu amor, por sua dedicação e compreensão, e por seu companheirismo em todas as horas. Agradeço por sua valorização à nossa família e pelo seu esforço em mudar-se para Viçosa. Também agradeço por valorizar os meus sonhos e assumi-los como seus. Esta conquista também é sua!

Aos meus irmãos, Caroline e Luiz Felipe, agradeço pela força e pela amizade, apesar da distância o apoio de vocês sempre foi fundamental.

Aos meus avós, José e Jacinta, e à minha querida avó Eurides, agradeço pelo exemplo de vida, pela força e dedicação à família. Estendo a minha gratidão a todos os meus familiares.

À Professora Paula Dias Bevilacqua agradeço pelo aprendizado, pelo incentivo e dedicação ao longo dos seis anos de trabalho juntas. Agradeço por ter me conduzido ao caminho da pesquisa e da docência. A experiência que tenho hoje, embora possa ser pequena, deve-se ao seu incentivo e à confiança que você depositou em mim. Sua contribuição foi determinante e muito valiosa na minha formação profissional. Agradeço

também pela orientação, pela paciência, pelos sábados, domingos e feriados dedicados ao nosso trabalho e, sobretudo, por sua amizade. Registro minha gratidão e admiração.

Ao Professor Rafael Kopschitz Xavier Bastos formalizo minha admiração e agradeço pelo incentivo, pelos desafios e pela valiosa colaboração em todos os trabalhos. Agradeço também por acreditar em mim e por incentivar-me a arriscar novos caminhos que, em alguns momentos extrapolaram minha formação acadêmica, mas que ao final me acrescentam muito. Aproveito para registrar o meu agradecimento ao seu veículo (Fiat Uno), que possibilitou a realização de todas as coletas na zona rural.

Ao Professor Elpídio Inácio Fernandes Filho e à Raquel Portes agradeço pelo apoio imprescindível na espacialização dos dados e na confecção dos mapas.

Ao Professor Demétrius David da Silva agradeço a atenção, o apoio na medição de vazão e o empréstimo do molinete. Aos amigos(as) da Hidráulica, Daniele e Luís Gustavo, agradeço a colaboração no trabalho de campo.

Agradeço à Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Veterinária, pela oportunidade de realizar o Mestrado, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Luis Carlos da Silva agradeço o apoio laboratorial de longas datas no preparo dos meios de cultura e esterilização dos materiais, sempre com muita boa vontade. Agradeço também aos demais funcionários do Laboratório de Medicina Preventiva do Departamento de Medicina Veterinária.

À querida Rosi agradeço a atenção, a dedicação e o auxílio nas questões burocráticas, além da torcida nas seleções da pós-graduação.

À Divisão de Água e Esgoto da Universidade Federal de Viçosa (DAG-UFV), agradeço a disponibilidade do laboratório e a compra dos materiais para realização da pesquisa. À Regiane, ao Luís Eduardo e às colegas de laboratório, Jesana, Neliane, Rosane, Manuela e Raíssa, agradeço o apoio e a amizade.

À estagiária Marília agradeço a ajuda constante e valiosa na pesquisa dos esporos.

Ao José Silvério Lopes Rosado agradeço por ser tão prestativo e pelo auxílio nas coletas, mesmo em período de férias. Agradeço também aos demais funcionários da DAG-UFV, Daniel e Raimundo, pela colaboração com o trabalho de campo.

À Rose agradeço pela amizade, pelo companheirismo, pela disposição em me ouvir sempre e pelos conselhos.

À Nolan agradeço pela parceria nas disciplinas, pelas noites de estudo e pela amizade.

Às minhas amigas Camilla e Priscila agradeço pelos momentos de diversão, pela torcida e pelo apoio sempre. Estendo os meus agradecimentos à minha turma de graduação VET 2001, onde fiz grandes amizades.

À Aliança Bíblica Universitária, especificamente ao grupo ABU-Pós, representado por: Álvaro, Ana, Aracy, Camila, Charles, Cynthia e Walnir, Daniel Coelho, Daniel e Fernanda, Deise, Éder e Flaviane, Eliecir, Evaldo e Lenira, Glauco e Keily, Jeverton, Karla, Kleibe e Lívia, Lecy, Lelisângela, Lílian, Lissânder e Kelen, Luís Gustavo e Dany, Maira, Reinaldo e João Marcos, Maurício, Menta, Nívio, Nolan, Rita Márcia, Sarita e Pablo, Sérgio, Sheila e Tonica, agradeço pelo apoio, pela amizade e pelo companheirismo em todas as horas. Vocês também participaram desta conquista!

Enfim, a todos(as) que contribuíram com este trabalho e que me apoiaram durante esta jornada o meu 'Muito Obrigada!'

BIOGRAFIA

GRAZIELE MENEZES FERREIRA DIAS, filha de Luiz Carlos Carvalho Ferreira e Regina Célia Menezes Ferreira, nasceu aos 9 dias do mês de janeiro, do ano de 1983, na cidade de Carmo, no estado do Rio de Janeiro.

Concluiu o ensino fundamental (1º grau) em 1997 e o ensino médio (2º grau) em 2000 no Colégio Pitágoras, em Belo Horizonte – MG.

Em abril de 2001 ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG, finalizando em julho de 2005. Iniciou-se na pesquisa em agosto de 2002 pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), convênio CNPq/UFV sob a orientação da professora Paula Dias Bevilacqua.

No ano de 2004 e 2005 realizou estágio supervisionado na Secretaria Municipal de Saúde de Viçosa, nos setores de Vigilância Epidemiológica, Saúde Coletiva e na Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

Em agosto de 2005 ingressou no Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa, em nível de mestrado, pelo Departamento de Medicina Veterinária.

Em setembro de 2006, na cidade de Belo Horizonte, casou-se com Wilde Arthur Cardoso Dias.

SUMÁRIO

	página
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE GRÁFICOS	xiv
LISTA DE QUADROS	xv
LISTA DE TABELAS	xvi
LISTA DE EQUAÇÕES.....	xix
RESUMO	xx
ABSTRACT	xxii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Organismos indicadores da qualidade da água para consumo humano.....	4
2.1.1. Grupo coliforme.....	6
2.1.2. <i>Streptococcus</i> e <i>Enterococos</i>	7
2.1.3. Esporos aeróbios e <i>Bacillus subtilis</i>	9
2.1.4. Esporos anaeróbios e <i>Clostridium perfringens</i>	11
2.2. Organismos patogênicos.....	12
2.2.1. <i>Cryptosporidium</i> spp.	12
2.2.2. <i>Giardia</i> spp.	13

	página
2.3. Ocorrência de <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> em mananciais de abastecimento de água.....	14
2.4. Fatores que interferem na qualidade da água bruta em mananciais superficiais.....	20
2.5. Correlação entre <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> e organismos indicadores de contaminação fecal na água bruta.....	26
2.6. Técnicas de detecção de protozoários em amostras ambientais: vantagens, desvantagens e limitações.....	28
3. OBJETIVOS.....	33
3.1. Objetivo geral.....	33
3.2. Objetivos específicos.....	33
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1. Caracterização da área de estudo e definição dos pontos de monitoramento.....	34
4.2. Estudo 1: Impactos causados por populações animais na qualidade parasitológica da água de manancial de abastecimento: o caso do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – Minas Gerais.....	39
4.2.1. Coleta e análise de amostras ambientais.....	39
4.2.2. Coleta de material e exame coprológico animal.....	44
4.3. Estudo 2: Enteroparasitas na população humana residente na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu e impactos na qualidade parasitológica da água bruta.....	45
4.3.1. Coleta de material e exame coprológico humano	46
4.3.2. Coleta das amostras ambientais.....	46
4.4. Estudo 3: Parâmetros da qualidade microbiológica e parasitológica da água na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.....	46
4.4.1. <i>Streptococcus</i> e <i>Enterococcus</i>	47
4.4.2. Esporos aeróbios e <i>Bacillus</i> spp.....	49
4.4.3. Esporos anaeróbios e <i>Clostridium perfringens</i>	50

	página
4.4.4. Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i>	51
4.4.5. Protozoários <i>Giardia</i> spp.e <i>Cryptosporidium</i> spp.	52
4.4.6. Determinação da turbidez.....	52
4.4.7. Medição da vazão dos cursos d'água.....	53
4.4.8. Espacialização dos dados.....	59
4.4.9. Análise dos dados.....	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
5.1. Estudo 1: Impacto causado por populações animais na qualidade parasitológica do Ribeirão São Bartolomeu.....	62
5.2. Estudo 2: Enteroparasitas na população humana residente na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.....	97
5.3. Estudo 3: Monitoramento da qualidade microbiológica da água bruta na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.....	105
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	118
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
APÊNDICE A.....	131
APÊNDICE B.....	132
APÊNDICE C.....	134
APÊNDICE D.....	135
APÊNDICE E.....	136

LISTA DE FIGURAS

	página
1 Localização do município de Viçosa – Zona da Mata de Minas Gerais, 2007.....	37
2 Localização dos pontos de coleta de água, propriedades rurais e comunidades estudadas na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG, 2007.....	38
3 Pontos de coleta de água na bacia hidrográfica do RSB. (A) Ribeirão São Bartolomeu. (B) Córrego “São Lucas”. (C) Córrego dos Machados. (D) Córrego Santa Catarina. (E) Córrego Paraíso. (F) Córrego Palmital. (G) Córrego “Antuérpia”. (H) Córrego do Engenho.	40
4 Pontos de coleta de dejetos de duas suinoculturas existentes na bacia do RSB. (A) Suinocultura na sub-bacia Córrego “Antuérpia”. (B) Suinocultura na sub-bacia Córrego do Engenho.	41
5 Etapas do processo de floculação com carbonato de cálcio. (A) Etapa inicial. (B) Etapa final após <i>over night</i>	42
6 Cisto de <i>Giardia</i> spp. (A) Imufluorescência direta 400x - Amostra do RSB, Viçosa-MG, 2004.	43
7 Oocisto de <i>Cryptosporidium</i> spp. amostra fecal de caprinos, 1000x Viçosa-MG, 2004.	44
8 Colônias típicas de estreptococos e enterococos em Agar KF, amostra RSB, Viçosa-MG, 2007.....	48

	página
9 <i>Bacillus</i> spp. (A) Bactérias aeróbicas em meio azul de tripan (B) Teste confirmatório para <i>Bacillus</i> spp em ágar amido, formação do halo de amilase. Amostra do Córrego do Engenho, Viçosa – MG, 2007.....	50
10 Etapas para detecção de <i>Clostridium perfringens</i> (A) Filtração em membranas. (B) Incubação em jarra de anaerobiose. (C) Bactérias anaeróbicas. (D) Caldo Tioglicolato positivo e negativo. (E) Iron Milk negativo e positivo. (F) Coloração de gram, 400x.	51
11 Quantificação de coliformes totais e <i>E. coli</i> com meio Colilert®.....	52
12 Determinação área para cursos d'água de seção desuniforme.....	54
13 Perfil de variação da velocidade ao longo da profundidade.....	55
14 Medição da vazão na bacia hidrográfica do RSB. (A) Largura da seção horizontal. (B) Determinação da profundidade em diferentes seções transversais. (C) Método do Molinete. (D) Método do vertedor.....	57
15 Densidade de animais segundo a espécie explorada na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	68
16 Documentário fotográfico mostrando o acesso dos animais aos cursos d'água na bacia hidrográfica do RSB Viçosa, 2007 (A) Córrego São Lucas. (B) Córrego Paraíso. (C) Córrego Palmital. (D) (E) e (F) Córrego Antuérpia.....	74
17 Ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, janeiro a março de 2003, Viçosa–MG.....	81
18 Ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, maio a julho de 2003, Viçosa–MG.....	82
19 Ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, agosto a outubro de 2003, Viçosa–MG.....	83
20 Ocorrência de <i>Cryptosporidium</i> spp em amostras de água e na população animal janeiro de 2004, bacia hidrográfica do RSB, novembro de 2003, Viçosa–MG.....	84
21 Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, janeiro a março de 2003, Viçosa–MG.....	85
22 Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, maio a julho de 2003, Viçosa–MG.....	86

	página
23 Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, agosto a outubro de 2003, Viçosa–MG.....	87
24 Ocorrência de <i>Giardia</i> spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, novembro de 2003 a janeiro de 2004, Viçosa–MG.....	88
25 Divisão das sub-bacias e localização das propriedades rurais, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa –MG, 2007.....	90
26 Uso do solo na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa–MG, 2007.....	94

LISTA DE GRÁFICOS

	página
1 Médias geométricas de cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em amostras de água bruta, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	64
2 Análise de correlação entre as médias geométricas de cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> e a pluviosidade média, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	66
3 Prevalência média de propriedades positivas para (oo)cistos de protozoários e pluviosidade média, segundo o trimestre de coleta, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	71

LISTA DE QUADROS

	página
1 Principais espécies de <i>Cryptosporidium</i> e respectivos hospedeiros principais.....	13
2 Principais espécies de <i>Giardia</i> e respectivos hospedeiros principais.....	14
3 Genótipos de <i>Giardia duodenalis</i> e respectivos hospedeiros.....	14
4 Ocorrência de cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em esgotos sanitários.....	15
5 Ocorrência de <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> em mananciais superficiais.....	17
6 Ocorrência de em amostras de água de mananciais subterrâneos.....	18
7 Eficiência típica de remoção de organismos patogênicos em processos de tratamento de águas residuárias.....	24
8 Parasitas, turbidez e vazão segundo as estações do ano, Rio Delaware, Trenton, New Jersey, 1996.....	25
9 Principais características dos métodos usados para detecção e recuperação de protozoários em amostras ambientais.....	32
10 Resumo da metodologia aplicada segundo o estudo realizado, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG, 2003-2007.....	58
11 Resumo dos principais resultados segundo o estudo, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG, 2003-2007.....	117

LISTA DE TABELAS

	página
1 Valores de p, segundo análise pelo teste de Student, para comparação entre as médias geométricas de (oo)cistos de <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> segundo o trimestre de coleta, Viçosa-MG, 2004.	61
2 Cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em amostras de água bruta das sub-bacias de contribuição e do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, 2004.....	62
3 Médias geométricas de (oo)cistos segundo a sub-bacia e o Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, 2004.....	64
4 Prevalência de propriedades positivas para (oo)cistos segundo a tipo de manancial e fonte de água para dessedentação animal, Viçosa-MG, 2007.....	67
5 Prevalência média de propriedade positivas para (oo)cistos de protozoários segundo a categoria animais adultos, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	69
6 Distribuição proporcional e prevalência de propriedade positivas para (oo)cistos de protozoários segundo a categoria animal (bovinos), bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	70
7 Propriedades pesquisadas, propriedades positivas e prevalência de propriedades positivas para (oo)cistos de protozoários, segundo a sub-bacia, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	75
8 Prevalência de baias positivas para (oo)cistos em amostras de fezes caprinas, segundo o trimestre de coleta, sub bacia Córrego Antuérpia, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	76

	página
9 Cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em amostras de esgoto bruto de suínos e efluente de estação de tratamento de esgoto sanitário, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	77
10 Distribuição proporcional das propriedades e dos animais segundo a sub-bacia, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	79
11 Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre (oo)cistos e variáveis de ocupação das sub-bacias, hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	80
12 Estatística descritiva do escoamento de água e da distância do curral ao curso d'água segundo sub-bacia, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, 2007.....	91
13 Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre (oo)cistos e variáveis escoamento de água e distância do curral ao curso d'água, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	92
14 Uso do solo em hectares, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	95
15 Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre (oo)cistos e uso do solo em hectares, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.....	96
16 Distribuição da população estudada segundo variáveis sócio-demográficas, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005.....	99
17 Distribuição da população estudada segundo variáveis de saneamento, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005.....	100
18 Prevalência de enteroparasitas na população residente na bacia do RSB segundo o período de coleta e o agente, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005.....	102
19 Resultados das análises de associação entre exame coprológico positivo para enteroparasitas e variáveis sócio-demográficas e de saneamento, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005.....	102
20 Cistos de <i>Giardia</i> e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em amostras do RSB e efluente da ETE, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005.....	104
21 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta no Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	105

	página
22 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego São Lucas, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	106
23 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego dos Machados, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	106
24 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Santa Catarina, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	106
25 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Paraíso, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	107
26 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Palmital, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	107
27 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Antuérpia, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	107
28 Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego do Engenho, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	108
29 Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre parâmetros microbiológicas e turbidez, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007.....	110
30 Dados de vazão (L/s) segundo os córregos correspondentes às sub-bacias, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, março e junho de 2007.....	113
31 Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre vazão, pluviosidade, parâmetros microbiológicas e turbidez, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007.....	114
32 Valores de p, segundo análise pelo teste de Wilcoxon, para comparação entre as médias de pluviosidade, turbidez e parâmetros microbiológico, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007.....	115
33 Caracterização microbiológica do efluente da Suinocultura 2 e da ETE-Romão dos Reis, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007.....	116

LISTA DE EQUAÇÕES

	página
1 Cálculo do número total de (oo)cistos/L em amostras ambientais.	43
2 Cálculo do número de colônias de <i>Streptococos</i> fecais/100mL em amostras ambientais.	48
3 Cálculo da vazão pelo método do vertedor.	53
4 Cálculo do número de verticais necessárias para medição de vazão pelo método do molinete.	54
5 Determinação da área total para cursos d'água de seção desuniforme.	54
6 Cálculo da velocidade da corrente líquida.	55
7 Cálculo da velocidade média da corrente líquida.	56
8 Cálculo da vazão.	56

RESUMO

DIAS, Grazielle Menezes Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2007.
Qualidade microbiológica da água da bacia do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG: análise epidemiológica, ambiental e espacial. Orientadora: Paula Dias Bevilacqua. Co-orientadores: Rafael Kopschitz Xavier Bastos e Elpídio Inácio Fernandes Filho.

Esse projeto objetivou estudar a dinâmica de (oo)cistos de *Giardia* spp. e de *Cryptosporidium* sp. na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu (RSB). Foram desenvolvidos três estudos: o Estudo 1 avaliou a influência de populações animais na alteração da qualidade parasitológica do RSB; o Estudo 2 avaliou a prevalência de enteroparasitas em crianças residentes na área da bacia e o Estudo 3 objetivou avaliar parâmetros da qualidade microbiológica da água e correlação com variáveis de uso do solo e cobertura vegetal. No primeiro estudo, foram coletadas, trimestralmente, entre janeiro de 2003 a janeiro de 2004, amostras de água bruta de oito pontos, amostras de fezes de animais de 40 propriedades e amostras do esgoto de duas suinoculturas e do efluente de uma Estação de Tratamento de esgotos do Bairro Romão dos Reis (ETE-Romão dos Reis), todos localizados na bacia hidrográfica do RSB. No segundo estudo, desenvolvido entre julho de 2004 e junho de 2005, pesquisou-se enteroparasitas na população humana de zero a dez anos de idade residente em duas comunidades localizadas na bacia. No mesmo período, o efluente da ETE-Romão dos Reis e a água do RSB foram monitorados para a presença de protozoários. No Estudo 3, entre janeiro e junho de 2007, realizou-se pesquisa de esporos anaeróbios e aeróbios (mensalmente), estreptococos, enterococos, *E. coli*,

coliforme totais e (oo)cistos de *Giardia e Cryptosporidium* (quinzenalmente) em amostras de água bruta dos oitos pontos de coleta de água do Estudo 1. Também o efluente da ETE-Romão dos Reis e de uma suinocultura foram monitorados, quinzenalmente, para pesquisa de estreptococos, enterococos e (oo)cistos de *Giardia e Cryptosporidium*. Adicionalmente, realizaram-se medições de turbidez da água bruta e vazão dos córregos pesquisados. No Estudo 1, encontramos elevadas concentrações de protozoários na água bruta em todos os períodos estudados (médias aritméticas: 20,2 e 15,3 (oo)cistos/L para *Giardia e Cryptosporidium*, respectivamente). A prevalência média de propriedades positivas (bovino) foi de 36,4% para *Giardia* spp. e 18,0% para *Cryptosporidium* spp. sendo a diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0002$). Dentre os enteroparasitas identificados nas amostras de fezes humanas, observou-se maior prevalência para *Giardia* (6,1%) e ausência de *Cryptosporidium*. Elevadas concentrações de ambos os protozoários foram identificadas no efluente da ETE-Romão dos Reis (10^4 cistos de *Giardia* spp./L e 10^2 oocistos de *Cryptosporidium* spp./L para) e das suinoculturas (10^3 cistos de *Giardia* spp./L e 10^2 oocistos de *Cryptosporidium*/L). No Estudo 3, observamos existência de correlação entre protozoários na água, pluviosidade e turbidez ($p < 0,01$). A ocorrência de *Giardia e Cryptosporidium* também esteve correlacionada à presença de esporos anaeróbios e *Clostridium perfringens* ($p < 0,05$). Observamos correlação negativa entre a ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. e a presença de mata/capoeira, embora não estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Os resultados indicam que explorações animais e populações humanas existentes nas sub-bacias que integram a bacia hidrográfica do RSB contribuem para a contaminação da água superficial, quanto à presença de (oo)cistos de protozoários, deteriorando, por sua vez, o manancial de abastecimento de água para consumo humano. Nesse sentido, a ausência de cuidados específicos que visem a proteção da bacia do manancial de abastecimento de água para consumo humano pode implicar em risco de transmissão de doenças às populações consumidoras.

ABSTRACT

DIAS, Grazielle Menezes Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August of 2007. **Microbiological quality of water in the basin of São Bartolomeu River, Viçosa - MG: epidemiological, environmental, and spatial analysis.** Adviser: Paula Dias Bevilacqua. Co-Advisers: Rafael Kopschitz Bastos and Elpidio Inacio Fernandes Filho.

This project aims at studying the dynamics of *Giardia* cysts *Cryptosporidium* oocysts. in São Bartolomeu stream (SB) watershed, Viçosa, Minas Gerais. In this sense, three studies were carried out: Study 1 - the impact caused by animal populations on the parasitological quality of SB water. Study 2 - enteroparasites prevalence among children residing in the SB watershed area. Study 3 - evaluation of SB microbiological and parasitological water quality parameters. In Study 1, from January 2003 to January 2004, water samples were collected every three months from the eight sampling points allocated within SB watershed, along with samples of animal feces from 40 farms, from two swine-breeding farms' wastewaters, and from the final effluent of Romão dos Reis neighborhood sewage treatment plant (STP). The occurrence of enteroparasites in humans was surveyed in two communities living within SB watershed, focusing at the infant population, from zero to ten years old, from July 2004 to June 2005. In the same period Romão dos Reis STP effluent and SB water sample was monitored for protozoa. From January to June 2007, as part of the Study 3, water samples from the eight above mentioned sampling points, Romão dos Reis STP effluent, and a swine-breeding wastewater were also monitored for protozoa. The water quality was monthly evaluated for anaerobic and aerobic bacteria spores, and biweekly for streptococcus, enterococcus, *E. coli*, total coliforms and *Giardia* and

Cryptosporidium (oo)cysts. In addition, the water flow and turbidity was also measured. High concentrations of protozoa were found in water samples all over the study period. In Study 1, the arithmetic means of *Giardia* and *Cryptosporidium* were respectively, 20.2 and 15.3 (oo)cysts/L. The average prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in cattle farms was, respectively, 36.4 and 18.0%, being the difference statistically significant ($p = 0.0002$). The results of children feces exams, showed an absence of *Cryptosporidium*, but *Giardia* as the enteroparasite of highest prevalence (6.1%). High concentrations of both protozoa were found in Romão dos Reis STP final effluent (cysts of. in the order of around 10^4 *Giardia* cysts per liter and 10^2 *Cryptosporidium* oocysts per liter), in swine-breeding wastewaters (up to 10^3 *Giardia* cysts per liter and 10^2 *Cryptosporidium* oocysts per liter). In Study 3 the occurrence of protozoa in water samples was found to be correlated with rain and water turbidity ($p < 0.01$). The occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* was also associated to the presence of anaerobic spores and *Clostridium perfringens* ($p < 0.05$). Also, a negative correlation was found between the occurrence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. and wooded areas, though not statistically significant ($p < 0.05$). The results indicate that animal breeding and human settlements in São Bartolomeu stream watershed contribute to its water contamination, regarding the presence of protozoa oocysts. The lack of protection measures of this drinking-water source may pose risks of disease transmission.

1. INTRODUÇÃO

A ação humana no meio ambiente tem promovido uma gradual degradação da qualidade deste meio. O rápido crescimento de aglomerados urbanos sem a prévia organização de ações de saneamento local, típica de países em desenvolvimento, acarreta a existência de fatores contribuintes para a degradação ambiental, como o não tratamento ou o tratamento inadequado dos resíduos sólidos e das águas residuárias e, ou, a disposição destes ou dos produtos de seus tratamentos de forma a promover impactos negativos consideráveis no meio ambiente.

A disposição de fezes humanas e de animais, sem tratamento prévio, pode provocar a contaminação de mananciais de água superficiais e subterrâneos utilizados para consumo humano com microrganismos patogênicos. Nesse contexto, as parasitoses intestinais ou enteroparasitoses são responsáveis por altos índices de morbidade, principalmente nos países em desenvolvimento, onde o crescimento populacional não é acompanhado da melhoria das condições de vida da população (REY, 1992; NEVES, 2000).

Dentre os enteroparasitas veiculados pela água, é antigo o conhecimento da associação entre *Giardia* sp. e água com qualidade imprópria ao consumo humano. Mais recentemente, soma-se a esta lista o *Cryptosporidium* spp, responsável por parasitose de caráter emergente, tanto pela sua ampla distribuição (cosmopolita) quanto pela ocorrência de diversos surtos e infecções esporádicas registrada em várias partes do mundo. Crianças e indivíduos imunocomprometidos são os mais sensíveis à sua ação, porém indivíduos imunocompetentes podem apresentar infecções assintomáticas, adquirindo importância epidemiológica na manutenção desta enfermidade no meio.

Esses parasitas são alvo de preocupações recentes, tanto das autoridades de saúde pública quanto da comunidade científica, devido à transmissão comprovada de cistos de *Giardia sp.* e oocistos de *Cryptosporidium spp.* através do consumo de água tratada e distribuída por sistemas de abastecimento (LE CHEVALLIER et al., 1997). Esse fato alerta que mesmo populações que consomem água tratada apenas pelo processo de desinfecção (cloração), ou que consomem água de estações de tratamento que não realizam um controle rigoroso da eficiência do processo de filtração e, ou, apresentam deficiências operacionais, podem estar sob maior risco de infecções por estes agentes (CRAUN, 1979; KENT et al., 1988).

A crescente preocupação com a transmissão de protozoários via abastecimento de água para consumo humano envolve ainda as seguintes dificuldades na busca de equacionamento do problema: (i) o reconhecimento das limitações dos processos convencionais de tratamento de água na remoção/inativação de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* (NIEMINSKY; ONGERTH, 1995); (ii) a insuficiência do controle tradicional da qualidade da água tratada por meio do emprego de bactérias do grupo coliforme ou outros indicadores (BASTOS et al., 2000a); (iii) as limitações analíticas dos métodos disponíveis de pesquisa de protozoários em amostras de água (ALLEN et al., 2000); (iv) a dificuldade de estimar riscos à saúde associados à presença de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em águas de consumo humano, principalmente quando em números reduzidos (CRAUN et al., 1998); (v) o conhecimento da participação de reservatórios animais na manutenção destas parasitoses em nosso meio, haja visto o potencial zoonótico de ambas.

A partir de dados disponibilizados pela Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Saúde (SMS/PMV), percebe-se que dentre todos os parasitas intestinais diagnosticados no período de 1992 a 1998, na população que realizou exame parasitológico de fezes no laboratório do Centro de Saúde da Mulher e da Criança, pertencente ao Sistema Único de Saúde (CSMC-SUS), a *Giardia spp.* aparece, proporcionalmente, como a terceira mais importante.

A pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* nas fezes não é realizada rotineiramente nos laboratórios clínicos que servem à região de Viçosa, portanto, não existem dados locais

sobre a prevalência desta enfermidade na população. Entretanto, se considerarmos a forte pressão de poluição dos mananciais de água superficiais que abastecem a região com fezes humanas e animais e a importância da transmissão da *Giardia* nessa, que pode ser considerada como sentinela para a presença do *Cryptosporidium*, poderíamos presumir que possa estar ocorrendo a transmissão deste patógeno no município de Viçosa.

Estudos de monitoramento do manancial superficial Ribeirão São Bartolomeu (RSB) que abastece a estação de tratamento de água da Universidade Federal de Viçosa (ETA-UFV) e uma das estações do município, operada pelo Serviço Autônomo de Água e Esgotos (ETA1-SAAE), têm revelado a presença de ambos os protozoários na água bruta. Dados preliminares de um estudo realizado demonstraram a existência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em um dos mananciais de abastecimento do município de Viçosa-MG em densidades de 7,0-140 cistos/L e 7,98-510 oocistos/L, respectivamente. Em todas as amostras com presença de *Giardia* e *Cryptosporidium*, as densidades superaram, em muito, os “níveis de alerta” sugeridos na literatura. Em tese, estar-se-ia perante riscos elevados de infecção (BASTOS et al., 2001). Os níveis de alerta descritos na literatura são 3 a 5 cistos/100L para *Giardia* e de 10 a 30 oocistos/100L para *Cryptosporidium* segundo Haas e Rose (1995) e Wallis et al. (1996). Por outro lado, estudo sobre demanda laboratorial de exames parasitológicos de fezes no município tem revelado uma prevalência de infecção por *Giardia* de 2,7% (OLIVEIRA; BEVILACQUA et al., 2001).

Estas informações apontam para a necessidade do contínuo monitoramento da água do manancial, com o intuito de descrever a dinâmica ambiental desses protozoários, e de se desnudar qual o papel que explorações animais e populações humanas existentes na bacia hidrográfica do manancial de abastecimento de água para consumo humano possam representar na qualidade parasitológica da água bruta. Nesse sentido, torna-se importante avaliar quais espécies animais podem servir como potenciais reservatórios e, em função da forma de eliminação de (oo) cistos, o peso relativo associado à deterioração da qualidade da água do manancial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Organismos indicadores da qualidade da água para consumo humano

A pesquisa rotineira de patógenos na água esbarra em algumas dificuldades como: a necessidade de profissionais treinados, mão de obra especializada, além de uma infraestrutura adequada que, na maioria das vezes representa alto custo para implementação e manutenção, complexidade e tempo para as análises, dentre outras. Esse quadro inviabiliza a pesquisa de patógenos na rotina e torna necessária a busca de organismos indicadores que podem ser utilizados como ‘sentinelas’ da presença/ausência de organismos patogênicos. A escolha dos parâmetros indicadores da qualidade da água é função, dentre outros aspectos, do ambiente ou situação em estudo.

Na avaliação da qualidade da água bruta, a interpretação básica do emprego de organismos indicadores é que sua presença atesta poluição de origem fecal e, portanto, risco de contaminação, ou seja, da presença de patógenos; entende-se, ainda, que a densidade de indicadores indica o grau de poluição/contaminação. Para tanto, alguns requisitos devem ser atendidos: (i) *os organismos indicadores de contaminação* devem ser de origem exclusivamente fecal; (ii) devem apresentar maior resistência que os patogênicos aos efeitos adversos do meio ambiente; (iii) devem se apresentar em maior número que os patogênicos; (iv) não devem se reproduzir no meio ambiente e (v) devem ser de fácil identificação (BASTOS et al., 2000).

No efluente de processos unitários de tratamento de água, ou no efluente final de uma estação de tratamento de água (ETA), o emprego desses organismos assume o sentido de *indicadores da eficiência do tratamento*, a partir dos seguintes pressupostos: (i) a

ausência do organismo indicador no efluente indicaria a ausência de patógenos, pela destruição e, ou, remoção de ambos por meio dos processos de tratamento e (ii) sua concentração residual no efluente deveria guardar uma relação proporcional com a concentração residual de patógenos ou corresponder à ausência dos patógenos. Portanto, para que um organismo cumpra este papel os seguintes requisitos devem também ser observados: (i) o indicador deve ser mais resistente aos processos de tratamento que os patógenos; (ii) o mecanismo de remoção de ambos deve ser similar e (iii) o indicador deve estar presente no afluente em densidades superiores às dos patógenos e as taxas de remoção/decaimento de ambos devem ser similares ou a dos patógenos superior à dos indicadores (BASTOS et al., 2000; BASTOS et al., 2003).

Os organismos indicadores de contaminação e de eficiência de tratamento tradicionalmente utilizados pela engenharia e microbiologia sanitárias são as bactérias do grupo coliforme, as quais, entretanto, apresentam limitações na avaliação da qualidade da água. O grupo dos estreptococos também é alvo de pesquisa como indicador de contaminação fecal. Anteriormente, pesquisadores associavam a relação entre “coliformes fecais” (CF) e “estreptococos fecais” (EF) como indicadora da origem da contaminação (SINTON et al., 1993).

Os dois grupos citados acima são constituídos de bactérias e, portanto, possuem algumas limitações como indicadores. Os critérios universalmente empregados, para caracterizar o padrão bacteriológico de potabilidade da água, valem-se, principalmente, da ausência de bactérias do grupo coliforme como indicadores de qualidade da água tratada, os quais são reconhecidamente insuficientes para testar a ausência de protozoários (NIEMINSKI; ONGERTH, 1995; GAMBA et al., 2000). Alternativamente, tem-se buscado o emprego de outros organismos, por exemplo, *Bacillus subtilis* e *Clostridium perfringens*, os quais apresentam também vantagens e desvantagens.

A busca de parâmetros microbiológicos de maior simplicidade analítica e padrão de resistência similar aos protozoários têm instigado os microbiologistas testarem diversos microrganismos. De acordo com Rice et al. (1996) bactérias esporogênicas têm se mostrado úteis como indicadoras da eficiência de remoção de protozoários (*Cryptosporidium* e *Giardia*) em estações de tratamento de água. Chauret et al. (1999) concluíram em seus

trabalhos que esporos bacterianos podem ser indicadores adequados para o controle da remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Já há algum tempo, os clostrídios sulfito redutores têm sido propostos como indicadores de qualidade microbiológica da água (CERQUEIRA et al., 2000).

Como não há um único organismo que satisfaça, simultaneamente todas estas condições deve-se trabalhar com o(s) indicador (es) que apresentem a melhor associação com os riscos à saúde relacionados com um determinado ambiente ou situação (BASTOS et al., 2000).

2.1.1. Grupo coliforme

De acordo com definições da Portaria MS nº518/2004, os coliformes totais (bactérias do grupo coliforme) são bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo (BRASIL, 2004).

Os coliformes termotolerantes são subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas; tendo como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal.

A *Escherichia coli*: bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não hidrolisa a uréia e apresenta atividade das enzimas β galactosidase e β glicoronidase, sendo considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2004).

O grupo dos coliformes totais inclui vários gêneros e espécies de vida livre, sendo assim, sua utilização como indicador de contaminação de fontes de abastecimento fica comprometida. O grupo dos coliformes termotolerantes também inclui bactérias de origem não exclusivamente fecal, embora em menor proporção que o grupo dos coliformes totais,

por isso, sua utilização na avaliação da qualidade de águas naturais, principalmente em países de clima tropical, também tem sido questionada. De acordo com Bastos et al. (2000), a presença de coliformes termotolerantes, na maioria das vezes, guarda melhor relação com a presença de *E. coli*, aliado à simplicidade das técnicas laboratoriais de detecção, seu emprego ainda é aceitável, sendo que a *E.coli* será sempre o indicador mais preciso de contaminação (BASTOS et al., 2000; WHO, 2004).

2.1.2. *Streptococcus* e *Enterococos*

Ainda como busca de um indicador de contaminação fecal adequado, os *Streptococcus* e *Enterococos* também são estudados por habitarem o trato gastrintestinal de animais e de seres humanos, e possivelmente indicar contaminação fecal na água. Em 1984, o grande gênero *Streptococcus* foi dividido através de taxonomia molecular em três gêneros: *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus* (KNUDSTON; HARTMAN, 1992; HARDIE; WHILEY, 1997; MORRISON et al., 1997).

Os gêneros *Streptococcus* e *Enterococos* são conhecidos genericamente como estreptococos “fecais”, uma denominação para localizar um grupo de bactérias que tem como habitat o trato intestinal humano e animal e, como principal característica comum, possuir o antígeno do grupo D de Lancefield. Esse termo genérico além de englobar, taxonomicamente, os gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus* inclui várias espécies de vida livre (WHO, 1995).

São bactérias gram positivas nas formas esféricas ou ovóides (cocos ou cocobacilos), arrançadas em pares ou cadeias; não formam esporos, são aeróbias ou anaeróbicas facultativas, catalase negativas, crescem em bile e esculina e têm complexo requerimento nutricional (HARDIE; WHILEY, 1997).

Os *Enterococcus* se caracterizam pela alta tolerância às condições adversas de crescimento, tais como, capacidade de crescer na presença de 6,5% de cloreto de sódio, a pH 9,6 e nas temperaturas de 10° e 45°C. A maioria das espécies dos *Enterococcus* é de origem fecal humana, embora possam ser isolados de fezes de animais (HARDIE; WHILEY, 1997; MORRISON et al., 1997; APHA, 1998; PINTO et al., 1999; SILVA et al., 2001; PITA, 2002).

A diferenciação dos três gêneros e das espécies pertencentes ao gênero *Enterococcus* foi possível, dentre outras técnicas, graças à aplicação de moderna taxonomia molecular, com ampla análise da seqüência de gene 16S rRNA e estudos de hibridização DNA-DNA. Dessa forma, os organismos anteriormente classificados como *Streptococcus*, grupo sorológico D de Lancefild, foram reclassificados como gênero *Enterococcus*, mantendo apenas duas espécies remanescentes no gênero *Streptococcus* (*S. bovis* e *S. equinus*) (KNUDSTON; HARTMAN, 1992; HARDIE; WHILEY, 1997; MORRISON et al., 1997).

Enterococcus são usualmente associados a fezes humanas, entretanto podem também ser encontrados no trato intestinal e fezes de animais. Algumas espécies também têm sido isoladas de solo, alimento, água e plantas; sua habilidade de crescer e sobreviver sob grande variação de condições ambientais, incluindo extremos de temperatura e concentração de sais, provavelmente contribua para a enorme distribuição do gênero em diversos ambientes (MORRISON et al., 1997; APHA, 1998; PINTO et al., 1999; PITA, 2002).

Em humanos, *Enterococcus* podem ser isolados de quase 100% das amostras fecais, sendo que a espécie *E. faecalis* é mais comumente encontrada e em maior número que *E. faecium* (HARDIE; WHILEY, 1997).

De acordo com Pinto et al. (1999), considerando os gêneros *Enterococcus* e *Streptococcus*, poucas espécies (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. duran*, *E. hirae*, *E. cecorum*, *S. bovis*, *S. equinus*, etc) são espécies verdadeiramente fecais. Para algumas espécies (*E. raffinosus*, *E. dispar*, *E. flavescens*, etc), a origem fecal ainda precisa ser estabelecida. Enquanto outras (*E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. sulphureus*) parecem ser bactérias ambientais.

Com relação ao potencial patogênico, muitas das espécies dos gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus* estão associadas a infecções em humanos e animais, alguns em forma aguda, ou como patógenos oportunistas em endocardites, infecções do trato urinário e em muitas outras situações. Nos animais, *Streptococcus* causam um número grande de enfermidades, mas o papel dos enterococos é menos claro (HARDIE; WHILEY, 1997).

Teorias antigas associavam a relação entre “coliformes fecais” (CF) e “estreptococos fecais” (EF) como indicadora da origem da contaminação fecal. Baseados no fato de fezes humanas possuírem maior quantidade de coliformes enquanto fezes animais possuem maior quantidade de estreptococos, autores sugerem que quando a relação CF/EF for > 4 é indicativo de contaminação humana e quando essa relação for $< 0,7$ seria indicativo de contaminação de origem animal. A idéia de se usar os estreptococos para diferenciar fontes de contaminação das águas parece ter sido discutida primeiramente por Winslow e Palmer em 1910. Desde então, esse grupo foi investigado como potencial distintivo entre diferentes tipos de poluição fecal na água, particularmente entre fontes de origem animal e humana (SINTON et al., 1993). Entretanto, atualmente essa teoria não é mais aceita por ser o grupo dos estreptococos muito amplo, incluírem muitos gêneros e espécies, e pela reformulação taxonômica ocorrida e descrita anteriormente.

Entretanto, ainda persistem muitas dúvidas acerca do valor desse grupo de bactérias como indicadores de contaminação fecal. Em países de clima tropical, sugere-se que esses microrganismos podem estar presentes naturalmente no ambiente, sem necessariamente refletir o grau de contaminação das águas, apesar de também serem citados como indicadores de contaminação fecal (OMS, 1995; HARDIE; WHILEY, 1997; SOCCOL, 2001; PITA, 2002).

Sinton et al. (1993), revelam que apesar de extensas investigações, os estreptococos fecais não são bons indicadores da origem da fonte poluidora, isto é animal ou humana. Principalmente pelo fato dos *S. faecium* e *S. faecalis* serem encontrados em fezes humanas e animais e o *S. bovis*, que caracterizaria as fontes animais poder sobreviver no meio ambiente.

2.1.3. Esporos aeróbios e *Bacillus subtilis*

As espécies do gênero *Bacillus* são organismos pertencentes à família Bacillaceae, Gram-positivas, estrita ou facultativamente aeróbicas. São classificadas nos subgrupos *B. polymyxa*, *B. subtilis* (que inclui *B. cereus* e *B. licheniformis*), *B. brevis* e *B. anthracis*. Dentre as espécies do gênero *Bacillus*, algumas são consideradas patogênicas aos seres humanos e demais mamíferos, como o *Bacillus anthracis* (causa o antraz em seres humanos e outros animais) e *Bacillus cereus* (sugerido como causa de intoxicação alimentar em

indivíduos saudáveis e bacteremia em indivíduos imunocomprometidos, tendo como sintomas, diarreia e vômito) (STROHL et al., 2004; OMS, 2006).

O subgrupo *Bacillus subtilis* tem como habitat natural o solo, podendo ser encontrado na água e no ar. Essas bactérias são classificadas entre as rizobactérias, auxiliando na nodulação de raízes e no controle de crescimento de microrganismos fitopatogênicos (MELO; VALARINI, 1995; LAZZARETTI; MELO, 2005). Algumas linhagens são estudadas como agentes de controle biológico de bactérias e fungos e como produtoras de antibióticos (LAZZARETTI; MELO, 2005). São consideradas, ainda, como importantes fontes produtoras de amilase e utilizadas como probióticos na alimentação animal (FLEMMING; FREITAS, 2005; BEZERRA et al., 2006).

Os *Bacillus subtilis*, são capazes de formar endosporos de resistência em resposta a sinais ambientais ou fisiológicos (REAL; HENRIQUES, 1999). A parede espessa desses esporos apresenta resistência também a agentes químicos e físicos utilizados na desinfecção (PELCZAR et al., 1996) e por isso tem merecido atenção como potenciais indicadores de qualidade da água, inclusive da remoção de *Cryptosporidium* spp. em amostras de água tratada (RADZIMINSKI et al., 2002).

Os endosporos são definidos como células especializadas de ‘repouso’, desidratadas, altamente duráveis, com paredes espessas e camadas adicionais e que são formados dentro da membrana celular bacteriana em situações adversas, como, restrição ou depleção de nutrientes essenciais. Quando os endosporos são liberados do interior da célula, no ambiente, podem sobreviver a temperaturas extremas, falta de água e exposição a muitas substâncias tóxicas e à radiação. O processo de formação de endosporos dentro de uma célula-mãe vegetativa leva várias horas e é conhecido como esporulação ou esporogênese (TORTORA et al., 2000).

Rice et al. (1996) também destacam as bactérias esporogênicas como indicadores úteis da eficiência de remoção de protozoários (*Cryptosporidium* e *Giardia*) em estações de tratamento de água. Chauret et al. (1999) concluíram em seus trabalhos que esporos bacterianos podem ser indicadores adequados para o controle da remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp..

A proposta de Rice et al. (1996) em usar endosporos como indicadores da eficiência do tratamento da água para avaliação da remoção de (oo) cistos de protozoários procurou contornar essa questão, pois o *Bacillus subtilis* é aeróbio. Contudo, por serem pouco ocorrentes em ambientes aquáticos, ampliou-se esse parâmetro para a contagem de esporogênicos aeróbios. Estudos realizados com esse parâmetro, propondo-o como critério sensível à avaliação da eficiência do tratamento da água de consumo humano, apresentaram boas correlações com a remoção de (oo) cistos de *Cryptosporidium* e *Giardia* (GORDY; OWEN, 1999; NIEMINSKI et al., 2000).

2.1.4. Esporos anaeróbios e *Clostridium perfringens*

Os clostrídios são considerados os bacilos Gram-positivos anaeróbicos de maior importância clínica e, dentre eles, destaca-se o *Clostridium perfringens* pela produção de uma variedade de exotoxinas, enterotoxinas e enzimas hidrolíticas. Embora sejam bactérias da flora normal da vagina e trato gastrointestinal são causas de uma forma comum de intoxicação alimentar e quando introduzidos nos tecidos levam a casos de celulite anaeróbica e mionecrose (Strohl et al., 2004). São também relatados em processos infecciosos em bovinos, eqüinos e suínos (COSTA et al., 2004; OTUKI; BALDASSI, 2004; PENHA et al., 2005).

Bactérias anaeróbias também apresentam capacidade de produzir esporos de resistência, o que favorece sua permanência no ambiente por períodos prolongados (TORTORA et al., 2000; LOBATO; ASSIS, 2005) e as tornam resistentes aos processos de desinfecção. Por isso, têm sido bastante estudados como indicadores de contaminação ambiental mais remota e da eficiência da desinfecção, inclusive da remoção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. (SCHIJVEN, et al., 2002; SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006).

Dentre os endosporos anaeróbios, os mais relatados em pesquisas de amostras ambientais, em destaque na água, são aqueles formados pela espécie *Clostridium perfringens* cujas características como organismo indicador foram resumidas por Savichtcheva e Okabe (2006) sendo: inteiramente de origem fecal e, conseqüentemente, presente em esgoto e ambientes aquáticos; indicador de contaminação fecal remota; estável às variações ambientais não sofre efeitos de temperatura ou predação; boa correlação com alguns patógenos; indicativo de eficiência de inativação de vírus, cistos e oocistos; alta

correlação com casos de diarreia; isolamento e a identificação facilitada, pois os métodos são frequentemente baseados em provas bioquímicas (HORMAN et al., 2004; SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006).

2.2. Organismos patogênicos

2.2.1. *Cryptosporidium* spp.

A criptosporidiose é uma zoonose transmitida pelo protozoário *Cryptosporidium* spp., um parasita intestinal que acomete os seres humanos, mamíferos domésticos e outros animais, desenvolvendo-se, preferencialmente, nas microvilosidades das células epiteliais do trato gastro-intestinal, causando diarreia. Também pode estar relacionado a patologias do trato biliar e respiratório (LIMA, 2003).

Os primeiros casos relatados de criptosporidiose humana datam de 1976, porém já em 1910, Tyzzer propôs o nome *Cryptosporidium* para o gênero de protozoários parasitas que frequentemente encontrava em glândulas estomacais de camundongos de laboratório. Entretanto, este não foi considerado um patógeno importante para o ser humano até 1982, quando foi demonstrado como agente etiológico de diarreia em pacientes com infecção por HIV (MARSHALL et al., 1997; LIMA, 2003).

Atualmente, essa zoonose é considerada cosmopolita, sendo assinalada em todas as partes do mundo, por isso, constitui uma grande preocupação como doença emergente (USEPA, 2001; LIMA, 2003). A criptosporidiose está presente tanto em países em desenvolvimento que, muitas vezes, apresentam estrutura sanitária precária ou insuficiente, quanto em países desenvolvidos. Nesses últimos, diversos surtos são descritos e muitos incriminam a água de abastecimento como a fonte de infecção. Um dos surtos de maior proporção ocorreu nos Estados Unidos, na cidade de Milwaukee, Wisconsin, no ano de 1993, onde 403.000 mil pessoas foram contaminadas e foram registrados mais de 100 óbitos (Mac KENSIE et al., 1994). O quadro abaixo resume as principais espécies de *Cryptosporidium* e respectivos hospedeiros principais.

Quadro 1 - Principais espécies de *Cryptosporidium* e respectivos hospedeiros principais

ESPÉCIE	HOSPEDEIRO	REFERÊNCIA
<i>C. andersoni</i>	Bovinos e camelos	Lindsay et al. (2000) Xiao et al. (2004)
<i>C. galli</i>	Galinhas	Cuerent et al. (1986)
<i>C. canis</i>	Cães	Fayer et al. (2001)
<i>C. felis</i>	Gatos	Iseki (1979)
<i>C. hominis</i>	Humanos e macacos	Morgan-Ryan et al. (2002)
<i>C. nasorum</i>	Peixes	Alvarez-Pellitero (2002)
<i>C. parvum</i>	Bovinos, caprinos, ovinos e humanos	Tyzzler (1912)
<i>C. varanii (C. saurophilum)</i> ⁽¹⁾	Lagartos e cobras	Pavlasek et al. (1995)
<i>C. serpentis</i>	Serpentes	Levine (1980)
<i>C. muris</i>	Roedores e camelos	Tyzzler (1907)
<i>C. wrairi</i>	Porquinho-da-Índia	Vetterling et al. (1971)
<i>C. meleagridis</i>	Perus e humanos	Slavin (1955)
<i>C. baileyi</i>	Galinhas e perus	Current et al. (1986)
<i>C. molnari</i>	Peixes	Alvarez-Pellitero (2002)
<i>C. bovis</i>	Bovinos	Slapeta (2006)
<i>C. suis</i>	Suínos	Ryan et al. (2004)

NOTAS: (1) Ainda existem dúvidas se as espécies são diferentes entre si.

FONTE: Adaptado de Fayer (2004), Xiao et al. (2004) e Slapeta (2006).

2.2.2. *Giardia* spp.

O protozoário flagelado *Giardia* spp. habita a parte superior do intestino delgado dos seus hospedeiros. A primeira descrição do trofozoíto foi feita por Leeuwenhoek em 1681, que descreveu o parasita em suas próprias fezes. Entretanto uma descrição mais detalhada foi atribuída a Lambl em 1859 (SOGAYAR; GUIMARÃES, 2003).

Trata-se de um protozoário pertencente ao filo Sarcomastigophora que possui forma adulta móvel devido à presença de flagelos. Apresenta potencial caráter zoonótico, sendo capaz de acometer diversas espécies animais (Quadro 2) (MONIS; THOMPSON, 2003; STROHL et al., 2004).

A giardiose tem distribuição cosmopolita, estando a prevalência da infecção humana em torno de 2 a 5 % em países desenvolvidos e 20 a 40% em países em desenvolvimento. No Brasil, este coeficiente varia de 4 a 30% (USEPA, 1998b; SOGAYAR; GUIMARÃES, 2003).

Quadro 2 - Principais espécies de *Giardia* e respectivos hospedeiros

ESPÉCIE	HOSPEDEIROS
<i>G. duodenalis</i> (<i>G. intestinalis</i> , <i>G. lamblia</i>)	Mamíferos, incluindo humanos, bovinos e animais domésticos
<i>G. muris</i>	Ratos
<i>G. microti</i>	Roedores e canídeos
<i>G. psittaci</i>	Periquitos
<i>G. ardeae</i>	Garças
<i>G. agilis</i>	Rãs

Fonte: Adaptado de Monis e Thompson (2003).

A espécie *Giardia duodenalis* ainda é dividida em grupos de genótipos conhecidos como ‘assemblages’. A classificação desses genótipos descrita por Thompson (2004) encontra-se no Quadro 3.

Quadro 3 – Genótipos de *Giardia duodenalis* e respectivos hospedeiros

GENÓTIPO/ASSEMBLAGE	HOSPEDEIROS
Zoonótico/ A	Humanos, animais domésticos, gatos, cães, castores e cobaias
Zoonótico/ B	Humanos, chinchilas, cães, castores e ratos
Cão/ C, D	Cães
Animais domésticos/ E	Bovinos, caprinos e suínos
Gato/ F	Gato
Rato/ G	Roedores domésticos
Ratazanas	Roedores silvestres

Fonte: Adaptado de Thompson (2004).

2.3. Ocorrência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em mananciais de abastecimento de água

A distribuição mundial de giardiose e criptosporidiose seja em populações humanas ou animais, torna inevitável a contaminação ambiental e caracteriza a ocorrência ubíqua de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em mananciais de água superficial de qualidade variada.

No município de Viçosa, um estudo desenvolvido entre outubro de 2002 e maio de 2003 em amostras de água bruta do Ribeirão São Bartolomeu identificou presença de *Giardia* spp. nos meses de dezembro e fevereiro de 2002 (11,25 e 30,0 cistos/L) respectivamente. Para *Cryptosporidium* spp. foram encontradas amostras positivas nos meses de dezembro de 2002 a abril de 2003 com médias variando entre 3,75 a 20,02 oocistos/L (OLIVEIRA, 2007).

Estudo desenvolvido por Rose et al. (1991) avaliou a ocorrência comparativa de *Cryptosporidium* e *Giardia* em 257 amostras de água de 17 estados nos Estados Unidos. Os oocistos de *Cryptosporidium* foram detectados em 55% das amostras de água de superfície em uma concentração média de 43 oocistos/100 L, enquanto os cistos de *Giardia* foram encontrados em 16% das mesmas amostras em um concentração média de 3 cistos/100 L. Ambos os protozoários foram detectados mais freqüentemente nas amostras das águas que receberam esgotos e descargas da agricultura e foram isolados mais freqüentemente no outono do que outras estações do ano. As concentrações de *Giardia* e *Cryptosporidium* foram correlacionadas significativamente em todas as amostras de água analisadas (ROSE et al., 1991).

Outro estudo foi desenvolvido para avaliar o impacto na saúde pública da contaminação de oocistos de *Cryptosporidium* em três bacias hidrográficas após episódios de tempestades em Nova Iorque. Foram coletadas 94 amostras de água das bacias hidrográficas de Malcolm e N5 durante período de três anos. A distribuição de *Cryptosporidium* neste estudo foi comparada com dados obtidos de 27 amostras de água do Ribeirão Ashokan. As três bacias hidrográficas apresentavam diferentes níveis de atividade humana. Dentre um total de 121 amostras analisadas, 107 foram positivas e destas 94,4% estavam ligadas a fontes animais. *Cryptosporidium hominis* foi detectado em 6 amostras provenientes do Ribeirão Malcolm, outras 22 espécies ou genótipos foram detectados nas três bacias, dos quais 11 eram sabidamente ligados a fontes animais (JIANG et al., 2005). Nos Quadros 4 e 4, reúnem-se informações de literatura sobre a ocorrência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em esgotos sanitários e mananciais superficiais de abastecimento de água para consumo humano.

Quadro 4 - Ocorrência de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em esgotos sanitários

ESGOTO BRUTO		ESGOTO TRATADO		REFERÊNCIA
<i>Giardia</i> (cistos/L)	<i>Cryptosporidium</i> (oocistos/L)	<i>Giardia</i> (cistos/L)	<i>Cryptosporidium</i> (oocistos/L)	
$< 10^3 - 8,8 \times 10^4$	$1 - 1,2 \times 10^2$	-	-	Wallis et al. (1996) ⁽¹⁾
$9,5 \times 10^3 - 1,4 \times 10^4$	-	-	-	Gassmann e Schwartzbrod (1991) ⁽²⁾
$2,87 \times 10^{2(3)}$	$20^{(3)}$	$6,7^{(4)}$	$9,2^{(4)}$	States et al. (1997)
$2,13 \times 10^2 - 6,3 \times 10^{3(5)}$	$12,5-73^{(5)}$	ND ⁽⁶⁾ - $2,3 \times 10^{2(7)}$	ND - $50^{(7)}$	Grimason et al. (1993)
$6,42 \times 10^2 - 3,38 \times 10^{3(8)}$	-	ND - $44^{(9)}$	-	Sykora et al. (1991)
$1,07 \times 10^4$	60	-	-	Smith et al. (1992) citado por Grimason et al. (1993) ⁽¹⁰⁾
$8,71 \times 10^2 - 1,61 \times 10^3$	$2,6 \times 10^2 - 2,9 \times 10^2$	$< 0,25 - 4,67 \times 10^2$	0,33 - 25	Crockett e Haas (1997) ⁽¹¹⁾

NOTAS: (1) Faixa encontrada em amostras de 72 cidades do Canadá, coletadas mensalmente de 1991-1995. (2) Faixa encontrada em monitoramento de oito meses em Nancy, França. (3) Média geométrica de cinco amostras coletadas em sistema misto de esgotos sanitários e drenagem pluvial, Pittsburgh, EUA. (4) Média geométrica de amostras mensais (Jul. 94 – Jun. 96) de efluente secundário; Pittsburgh, EUA. (5) Faixa encontrada em monitoramento de dois meses em várias cidades do Quênia, África. (6) Não detectado. (7) Faixa encontrada em efluentes de onze lagoas de estabilização no Quênia; TDH mínimo para remoção completa de cistos e oocistos de 37,3 dias. (8) Faixa das médias geométricas de monitoramento de um ano (amostras mensais) em diversas regiões dos EUA. (9) Faixa encontrada em monitoramento de um ano (amostras mensais) de efluentes secundários (onze ETE's - lodos ativados) em diversas regiões dos EUA; 50% das amostras negativas. (10) Dados obtidos no nordeste do Brasil. (11) Faixa em três amostras de efluente secundário, Philadelphia, EUA.

FONTE: Bastos et al. (2001).

Quadro 5 - Ocorrência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em mananciais superficiais

<i>Giardia</i> (Cistos/100 L)	<i>Cryptosporidium</i> (Oocistos/100 L)	REFERÊNCIA
2,9 (0,1 – 181) 229 (7 – 2.125) 30 (8 – 114)	-	Isaac- Renton et al. (1996) ⁽¹⁾
0,34 – 2,77	-	Glicker e Edwards (1991) ⁽²⁾
-	99 (19 – 300) ⁽³⁾ 2 (1 – 13) ⁽⁴⁾	Rose (1988)
22	109	Rose et al. (1988) ⁽⁵⁾
0,33 – 104 ⁽⁶⁾ 0,6 – 5 ⁽⁷⁾	-	Rose et al. (1991)
200 (4 – 6.600)	240 (6,5 – 6.500)	Le Chevallier e Norton (1995) ⁽⁸⁾
48 – 101	67 – 256	Nieminski e Ongerth (1995) ⁽⁹⁾
240 – 2.100	58 – 260	Solo- Gabriele et al. (1998) ⁽¹⁰⁾
34 (12 – 156)	31 (7 – 2.223)	States et al. (1997) ⁽¹¹⁾
	0,6 – 230	Smith et al. (1991) ⁽¹²⁾

NOTAS: (1) Média geométrica e faixa de concentrações encontradas em um ano de monitoramento em três mananciais parcialmente protegidos; British Columbia, Canadá. (2) Faixa de concentrações em 69 amostras (1982-1987) de manancial protegido; Portland, EUA. (3), (4) Média aritmética e faixa de concentrações de seis amostras coletadas respectivamente em: (3) reservatórios e cursos d'água de usos múltiplos, recebendo descargas de esgotos e (4) mananciais protegidos; EUA. (5) Média geométrica de amostras coletadas duas vezes por semana durante um ano em curso d'água recebendo contribuições de esgotos sanitários e atividades agropecuárias (bovinocultura, ovinocultura e avicultura); EUA. (6), (7) Compilação de banco de dados de várias regiões dos EUA; (6) mananciais poluídos por contribuições de esgotos sanitários e atividades agropecuárias; (7) mananciais protegidos. (8) Média geométrica e faixa de concentrações encontradas em amplo programa de monitoramento em 14 estados; EUA. (9) Faixa das médias encontrada em programa de monitoramento de seis meses em manancial de boa qualidade físico-química; na bacia de captação encontram-se habitats de animais silvestres e atividades agropecuárias; Utah, EUA. (10) Faixas de concentração encontradas em monitoramento pontual de quatro mananciais poluídos em Honduras. (11) Média geométrica e faixa de concentrações de amostras mensais (Jul. 94 – Jun. 96) de rio poluído por efluente secundário em ETE's e contribuições de atividades agropecuárias; Pittsburgh, EUA. (12) Faixa de concentrações encontradas em programa de monitoramento de um ano em várias regiões da Escócia.

FONTE: Bastos et al. (2001).

Bastos et al. (2001), a partir da análise concomitante das duas tabelas, ressaltam os seguintes aspectos: a confirmação dos esgotos sanitários, mesmo efluentes secundários, como importante fonte de contaminação; a ocorrência de cistos de *Giardia* em esgotos sanitários em concentrações mais elevadas do que oocistos de *Cryptosporidium*; a natureza zoonótica das duas doenças, ilustrada pela ocorrência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em mananciais protegidos (por vezes sem qualquer atividade antropogênica), ou pela elevada concentração, principalmente de *Cryptosporidium*, em cursos d'água que recebem contribuição de efluentes agropecuários e a natureza ubíqua dos dois organismos.

Os dois últimos aspectos são ilustrados pelo registro de surtos de giardiose (EUA) via abastecimento de água supridos por mananciais bem protegidos, em que animais silvestres foram localizados como a mais provável fonte de contaminação (DYKES et al., 1980).

Adicionalmente, as diferenças significativas entre as concentrações de ambos os protozoários encontradas nos diferentes estudos e as amplas variações de concentrações em um mesmo estudo apontam para a necessidade de se aprimorarem os métodos de recuperação e detecção de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em amostras ambientais.

Ambos os protozoários são menos freqüentemente encontrados em mananciais subterrâneos do que em mananciais superficiais, dessa forma, poucos surtos de criptosporidiose e giardiose têm sido associados à contaminação de águas subterrâneas.

O Quadro 6 apresenta dados de literatura sobre a ocorrência de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* detectados em análise de amostras de água oriundas de diferentes mananciais subterrâneos.

Quadro 6 - Ocorrência de em amostras de água de mananciais subterrâneos.

ORIGEM DA ÁGUA								REFERÊNCIA
Poço vertical		Nascente		Poço horizontal		Galeria de infiltração		
Cistos de <i>Giardia</i>	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	Cistos de <i>Giardia</i>	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	Cistos de <i>Giardia</i>	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	Cistos de <i>Giardia</i>	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i>	
3% (2/63)	-	19% (16/84)	-	-	-	19% (5/16)	-	Hibler (1988) citado por USEPA (1998) ⁽¹⁾
1% (2/149)	5%	14% (5/35)	20%	36% (4/11)	45%	25% (1/4)	50%	Hancock et al. (1997) ⁽²⁾
-	80% 8/10	-	-	-	-	-	-	Gamba et al. (2000) ⁽³⁾

NOTAS: (1) (2) Mananciais subterrâneos dos Estados Unidos. (3) Manancial subterrâneo de Itaquaquecetuba, São Paulo, Brasil.

No estudo realizado por Hancock et al. (1997), do total de 463 amostras analisadas, 23 (5%) apresentaram cisto de *Giardia*, sendo que o número médio de cistos detectados foi de 8 cistos/100 L e a faixa foi de 0,1 a 120 cistos/100 L.

Os resultados de um estudo realizado em Honduras por Solo-Gabriele et al. (1998), indicam uma alta concentração de cistos de *Giardia* (2100/100 L, 240/100 L, 380/100 L) e oocistos de *Cryptosporidium* (260, 44, 58/100L) em 3 amostras de mananciais superficiais de água para abastecimento público, em relação às amostras de água subterrânea para abastecimento (6 cistos/100 L e 26 oocistos/100 L) e às amostras de água de torneira (120 cistos/100 L e 4 oocistos/100 L).

Apesar desses dados contradizerem suposições anteriores de que mananciais subterrâneos são inerentemente livres de protozoários, apontam que os níveis de contaminação são consideravelmente menores que os de mananciais superficiais. Adicionalmente, informações adicionais como características do aquífero, fluxo da corrente, características sobre a construção dos poços indicaram a existência de contaminação por águas superficiais.

Os critérios universalmente empregados, para caracterizar o padrão bacteriológico de potabilidade da água, valem-se, principalmente, da ausência de bactérias do grupo coliforme como indicadores de qualidade da água tratada, os quais são reconhecidamente insuficientes para testar a ausência de protozoários (NIEMINSKI; ONGERTH, 1995, GAMBA et al., 2000). Isto implica que a água bacteriologicamente pura pode conter e transmitir parasitas (GARIBOGLIO et al., 1989 citado por TAUS et al., 1998), por isso, a desinfecção das águas de superfície, como único tratamento, é ineficiente para prevenir a transmissão de *Cryptosporidium* e *Giardia*.

As águas superficiais utilizadas para abastecimento humano estão sujeitas a contaminações ambientais por esgoto humano ou fezes de animais, principalmente em áreas onde não existe tratamento de dejetos e, ou, as condições sanitárias da população são precárias. As águas subterrâneas podem apresentar níveis de contaminação menores ou quase nulos devido ao processo natural de filtração da água através das camadas de terra que formam o lençol subterrâneo, entretanto, este poder filtrante pode ser afetado pela profundidade do lençol aquífero, presença e concentração das contaminações nas proximidades destes e nas águas contribuintes. Poços localizados perto de rios que recebem esgotos não tratados podem potencialmente apresentar impactos na qualidade de sua água devido a essa proximidade.

Adicionalmente, a ocorrência de maior número de mananciais subterrâneos contaminados com *Cryptosporidium* do que com *Giardia* (Quadro 6) e a inversão da distribuição dos microrganismos alvo no manancial subterrâneo conforme demonstrado pelo estudo de Solo-Gabriele et al. (1998), pode provavelmente ser devido à capacidade de filtração do aquífero subterrâneo, que efetivamente remove os cistos de *Giardia* maiores (8-12µm) enquanto os oocistos de *Cryptosporidium*, que são menores (4-6 µm) são

transportados mais eficientemente para dentro do poço.

2.4. Fatores que interferem na qualidade da água bruta em mananciais superficiais

As águas superficiais estão sujeitas à variação na qualidade microbiológica, física e química em consequência de atividades desenvolvidas em sua bacia hidrográfica. É importante destacar que o lançamento de efluentes industriais e o recebimento de outras águas, sejam de afluentes ou mesmo águas de chuvas, são fatores que podem alterar negativamente a qualidade microbiológica da água bruta. Ainda vale destacar como potencial fonte de eliminação de protozoários os esgotos domésticos e os dejetos animais. O caráter e a intensidade das atividades humanas e animais na bacia hidrográfica são citados como fatores que podem aumentar a ocorrência de protozoários em 10-15 vezes, segundo Hansen e Ongerth (1991).

Um programa de monitoramento de protozoários em uma bacia hidrográfica nos Estados Unidos (EUA), proposto por Kaucner e O'Toole (1998), destaca a necessidade de se conhecer as características da área da bacia hidrográfica do manancial a ser estudado como forma de entender a dinâmica dos (oo)cistos de protozoários.

Os esgotos sanitários e as atividades agropecuárias constituem fatores inquestionáveis de contaminação de mananciais de água (STATES et al., 1997). Alguns estudos indicam que a contaminação animal é maior que a humana. A contaminação de esgotos sanitários de cerca de 250.000 habitantes (\cong 460L/s) pode equivaler à carga excretada de aproximadamente 100 indivíduos portadores de cistos de *Giardia* ou 200 indivíduos imunodeprimidos infectados com *Cryptosporidium*; por sua vez, um único bezerro ou uma ovelha infectados podem excretar mais oocistos por dia que 1.000 indivíduos imunodeprimidos (CROCKETT; HAAS, 1997).

A presença de animais pastando bem como a produção de forrageiras em áreas de bacias hidrográficas podem afetar negativamente a qualidade da água superficial com a erosão e o transporte de sedimentos para o curso d'água, incluindo nutrientes (fósforo e nitrogênio), fezes, urina, alguns fertilizantes associados à produção de pastagem e patógenos eliminados pelos animais.

Estudos revelam que os animais domésticos contribuem com maior carga de microrganismos quando comparados aos animais selvagens, indicando, assim, que a

exploração animal em áreas de bacias hidrográficas representa risco à contaminação dos mananciais superficiais (HEITMAN, 2002; COX, et al., 2005).

Um estudo desenvolvido em Sydney na Austrália realizou pesquisa de microrganismos indicadores e patogênicos em amostras de fezes de animais domésticos e selvagens existentes em três bacias hidrográficas. As amostras foram analisadas para a presença de bactérias do grupo coliforme, esporos de *Clostridium perfringens*, *Giardia* spp. *Cryptosporidium* spp. e vírus entéricos (adenovírus, enterovirus, e reovirus). Os autores relatam que foram encontradas concentrações mais elevadas, tanto de patógenos como de indicadores, nas amostras fecais provenientes de animais domésticos quando comparadas aos animais selvagens. Foram encontradas concentrações médias de 367 oocistos/g de fezes em suínos e 17 oocistos/g de fezes em caprinos (HEITMAN, 2002; COX, et al., 2005).

Com relação aos cistos de *Giardia* spp. foi observada maior ocorrência, uma vez que em pelo menos uma amostra de cada espécie animal doméstica estudada foram encontrados cistos. As concentrações médias detectadas foram: 835 cistos/g de fezes em cães, 133 cistos/g de fezes em bezerros, 68 cistos/g de fezes em bovinos adultos, 26 cistos/g de fezes em caprinos e 11 cistos/g de fezes em suínos. Com relação aos animais selvagens, os autores sugerem que a ocorrência de cistos de *Giardia* spp. é menor do que oocistos de *Cryptosporidium* spp. uma vez que os cistos de *Giardia* spp. só foram detectados em amostra de pato selvagem (4/9) e raposa (1/1). Esse mesmo trabalho relata que a ocorrência de ambos protozoários nos animais domésticos foi semelhante ao longo de todo o ano não sendo observada sazonalidade (HEITMAN, 2002; COX, et al., 2005).

A prevalência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em bovinos é relatada em alguns trabalhos na literatura. Olson et al. (1997) estudaram a prevalência desses protozoários em propriedades leiteiras no Canadá, identificando *Giardia* em todas as propriedades investigadas, com prevalência bovina média de 73% e média geométrica de cistos nas amostras fecais de 1.180 cistos/g de fezes. A ocorrência desse protozoário foi independente da idade dos animais acometendo tanto adultos quanto bezerros. A prevalência média de animais infectados com *Cryptosporidium* foi de 59% e a média geométrica de oocistos nas fezes foi de 457 oocistos/g. Diferentemente do observado com a *Giardia*, os autores relatam que a infecção por *Cryptosporidium* foi mais freqüente na faixa etária mais jovem

($p < 0,05$).

Outro trabalho também desenvolvido por Olson et al. (1997) avaliou a prevalência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em fazendas canadenses sendo pesquisadas amostras fecais de bovinos, caprinos, suínos e eqüinos. A prevalência encontrada foi de 29% e 20% em bovinos, 38% e 23% em caprinos, 9% e 11% em suínos e 20 e 17% em eqüinos para *Giardia* e *Cryptosporidium*, respectivamente. Os autores ainda destacam que desagregando os animais por faixa etária, foi observada maior prevalência nos animais jovens tanto em caprinos quanto em bovinos para ambos protozoários.

A capacidade de eliminação de protozoários por animais ainda é relatada por Xiao e Herd (1996) os quais referem à eliminação de *Giardia* em bovinos sem sinais clínicos na ordem de 1.000 cistos/g de fezes (média geométrica). Olson et al. (1997) referenciam a eliminação de 1.180 cistos/g e 457 oocistos/g de fezes para *Giardia* e *Cryptosporidium* respectivamente, também em bovinos.

Em estudo desenvolvido pela CETESB, onde foi avaliada a ocorrência dos protozoários patogênicos em fontes de água no estado de São Paulo em dez bacias hidrográficas, foi observado que a bacia que se destacou por apresentar pior qualidade parasitológica recebia as águas de quatro afluentes que também estavam contaminados com cistos de *Giardia* em densidades elevadas. Os autores atribuíram esse resultado à descarga de efluentes domésticos de cidades densamente povoadas existentes nas proximidades destes corpos d'água. Os autores ainda destacam que as cinco sub-bacias localizadas no entorno da cidade de São Paulo apresentaram ampla variação na qualidade parasitológica, sendo que o percentual de amostras positivas para *Giardia* variou de <10% a 100% (HACHICH et al., 2004).

No trabalho desenvolvido por Rose et al. (1988), 39 amostras de água de mananciais superficiais foram analisadas para presença de (oo)cistos de protozoários, os autores destacam que a concentração de oocistos foi aproximadamente 10 vezes maior que de cistos e (0,58 oocistos e 0,08 cistos/L). Essa maior ocorrência de oocistos foi atribuída à presença massiva de bovinos pastando ao longo das margens do rio.

Um estudo desenvolvido para avaliar a qualidade da água e a presença de animais pastando revelou que a presença dos animais afeta negativamente a qualidade da água

superficial. Segundo os autores, o excesso de animais em áreas próximas a mananciais superficiais provoca a compactação do solo dificultando a infiltração da água e, conseqüentemente, aumentando o processo de erosão. Além disso, as pastagens contaminam a água devido ao uso de fertilizantes. Os autores sugerem ainda, como forma de minimizar a contaminação das águas superficiais, o controle do número de animais por área, além da construção de cercas nas margens dos cursos d'água de forma a impedir o acesso dos animais e reduzir o risco de contaminação (HUBBARD et al., 2004).

Sendo assim, é importante salientar que para o gerenciamento de riscos em bacias hidrográficas, considerando microrganismos de origem fecal, deve-se priorizar os animais domésticos e a população humana por serem a principal fonte de eliminação de patógenos representando assim, impacto negativo na qualidade microbiológica da água de mananciais superficiais.

Além disso, é importante ressaltar a necessidade do tratamento adequado aos dejetos, sejam esgotos sanitários ou de origem animal. Nesse contexto, vale dizer que não existe técnica ideal de tratamento para águas residuárias. A escolha da solução mais adequada deve resultar de um balanço entre (i) custo de implantação; (ii) custos e complexidade de operação; (iii) eficiência de remoção dos constituintes das águas residuárias; (vi) destino final das águas residuárias (BASTOS et al., 2005).

As bactérias e os vírus são inativados em processos de tratamento de esgotos, sendo os primeiros mais sensíveis que os segundos. Os (oo)cistos de protozoários e, especialmente, os ovos de helmintos, são bem mais resistentes, por outro lado, apresentam tamanho e densidades que favorecem a potencial remoção por sedimentação (BASTOS et al., 2001). A eficiência da remoção de patógenos por meio do tratamento de esgotos está ilustrada no Quadro 7. Bastos (2005) destaca o emprego de lagoas de estabilização no tratamento de águas residuárias, haja visto o baixo custo relativo e a elevada eficiência de remoção dos diversos organismos patogênicos.

Quadro 7 - Eficiência típica de remoção de organismos patogênicos em processos de tratamento de águas residuárias

PROCESSOS DE TRATAMENTO	EFICIÊNCIA TÍPICA DE REMOÇÃO (\log_{10})			
	BACTÉRIAS	VÍRUS	PROTOZOÁRIOS	HELMINTOS
Processo secundário convencional + decantação secundária	0-2	0-1	0-1	0-2
Precipitação química	1-2	0-1	0-1	1-3
Precipitação química + Filtração terciária	1-2	1-2	1-3	1-3
Biofiltros	0-2	0-1	0-1	0-2
Reatores anaeróbios	0-1	0-1	0-1	0-1
Lagoas de estabilização	1-6	1-4	1-4	1-3
Desinfecção	2-6	1-4	0-3	0-1
Precipitação química + Filtração terciária + desinfecção	2-6	1-4	1-4	1-3

FONTE: Adaptado de Mara e Cairncross (1989) citados por Bastos (2005).

Outros fatores que influenciam a qualidade da água superficial também estão destacados em vários trabalhos científicos, como: o clima, a topografia e geologia do terreno, a presença de nutrientes, precipitação pluviométrica entre outros. Dentre estes fatores a intensidade e frequência das precipitações merecem destaque (HELLER et al., 2006), sendo que, segundo Hansen e Ongerth (1991), a concentração de protozoários na água superficial em períodos de seca pode ser 10 vezes menor do que em períodos chuvosos.

Os períodos de estiagem favorecem a estagnação da água nos lagos e reservatórios e o florescimento de algas. Adicionalmente, a ocorrência de queimadas aumenta a erosão da bacia hidrográfica. Em contrapartida, os períodos chuvosos acarretam a ressuspensão do material sedimentado no fundo de lagos e rios, favorecendo a elevação das concentrações de partículas e, conseqüentemente, os cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* a elas associadas (ATHERHOLT et al., 1998).

A associação das precipitações pluviométricas e a ocorrência de surtos de doenças de veiculação hídrica foi confirmada em um estudo realizado por Rose et al. (2000). Registros de surtos no período de 1971 a 1994, envolvendo 2.105 bacias hidrográficas nos EUA foram analisados. Verificou-se que 20 a 40% dos surtos registrados naquele período estavam associados a eventos de precipitações intensas. A maioria dos casos que envolveu hospitalização (cerca de 80%) foi atribuída à presença de *Cryptosporidium* e *Giardia*. Dentre os 89 óbitos registrados, 79% ocorreram durante surtos de criptosporidiose.

O efeito das chuvas nas concentrações dos parasitas também foi documentado por Stewart et al. (1997), os quais encontraram concentrações muito altas de *Giardia* e *Cryptosporidium* numa amostragem realizada logo após uma tempestade.

Atherholt et al. (1998) também estudaram a ocorrência de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em águas superficiais e associaram as concentrações de (oo)cistos a outros 15 parâmetros microbiológicos e meteorológicos. Estudos de correlação revelaram existência de associação entre *Giardia* e colifagos, demanda de oxigênio e temperatura do ar e da água. Encontrou-se associação entre o *Cryptosporidium* e coliformes totais, *E. coli*, alcalinidade, dureza, média diária de pH da água e vazão. *Clostridium perfringens* e turbidez apresentaram associação com ambos protozoários ($p < 0,05$). Os autores alertam para o fato de que a maioria dos parâmetros avaliados sofre influência da precipitação e destacam essa como o principal parâmetro capaz de interferir na concentração de protozoários na água por alterar a turbidez e vazão (Quadro 8).

Os períodos chuvosos aumentaram as concentrações desses protozoários na água bruta, primariamente por afetarem a turbidez, através da ressuspensão dos sedimentos ou suspensão de solos e matéria fecal antiga. Entretanto, os autores também assinalam a importância das descargas de esgotos como possíveis fontes de contaminação (ATHERHOLT et al., 1998).

Quadro 8 – Parasitas, turbidez e vazão segundo as estações do ano, Rio Delaware, Trenton, New Jersey, 1996

PERÍODO (n = 18)	PARÂMETROS					
	<i>Giardia</i> cistos/5L		<i>Cryptosporidium</i> oocistos/5L		Turbidez (uT)	Vazão m ³ /s
	MG ⁽¹⁾	Máximo	MG ⁽¹⁾	Máximo	MG ⁽¹⁾	MG ⁽¹⁾
Inverno (janeiro a março)	5,1	17	0,7	5	18	34.600
Primavera (abril a junho)	2,3	40	1,0	14	12	26.100
Verão (julho a setembro)	1,7	6	0,3	7	9	9.320
Outono (outubro a dezembro)	1,5	7	0,2	1	6	14.800

NOTA: (1) Média geométrica.

FONTE: Adaptado de Altherholt et al. (1998).

Nesse trabalho, observa-se que o período de inverno e primavera (janeiro a junho), caracterizado por valores de turbidez elevados (12-18 uT), foi o período onde se obtiveram as maiores médias geométrica de ambos protozoários, sugerindo sazonalidade.

O mesmo trabalho relata, ainda, que nos períodos de chuva, as concentrações de bactérias do grupo coliformes, *Escherichia coli*, enterococos e enterovírus aumentam. Com

relação à infectividade dos (oo)cistos, os autores destacam que apenas 1,9% dos cistos de *Giardia* observados tinham mais do que uma estrutura interna e 25% dos oocistos de *Cryptosporidium* detectados continham um ou mais esporozoítos, indicativos de infectividade potencial (ATHERHOLT et al., 1998).

Apesar das limitações das avaliações de infectividade de cistos e oocistos nesses estudos, Atherholt et al. (1998) enfatizam que a maioria dos surtos de criptosporidiose veiculados pela água ocorreu durante ou após chuvas fortes, incluindo o surto ocorrido em 1993, na cidade de Milwaukee, Wisconsin-EUA, com aproximadamente 403.000 casos e mais de 100 óbitos (Mac KENSIE et al., 1994).

2.5. Correlação entre *Giardia* e *Cryptosporidium* e organismos indicadores de contaminação fecal na água bruta

O padrão bacteriológico de potabilidade da água está fundamentado, principalmente, na ausência de bactérias do grupo coliforme como indicadores de qualidade da água tratada, os quais são reconhecidamente insuficientes para testar a ausência de protozoários (NIEMINSKI; ONGERTH, 1995, GAMBA et al., 2000). O que se observa na literatura são tentativas de se encontrar grupos de bactérias que sejam bons indicadores da remoção e, ou, inativação de protozoários em processos de tratamento de água. Nesse sentido, as bactérias anaeróbias, especificamente os esporos de *Clostridium perfringens*, assumem papel de destaque nos estudos desenvolvidos atualmente. Algumas bactérias aeróbias, dentre elas *Bacillus subtilis*, também têm merecido atenção como potenciais indicadores de qualidade da água tratada em relação à remoção de *Cryptosporidium* spp. (RADZIMINSKI et al., 2002).

Um estudo desenvolvido por Braga (2007) na Estação de Tratamento de Água da Universidade Federal de Viçosa sugere os esporos (aeróbios e anaeróbios) assim como contagem de bactérias heterotróficas e *Clostridium perfringens*, além da turbidez, cor e sólidos em suspensão, como possíveis indicadores para presença de (oo)cistos de protozoários. Entretanto, poucos dados são encontrados relativos à correlação da ocorrência desses microrganismos indicadores nos mananciais e a presença de protozoários na água bruta.

Um estudo desenvolvido na Finlândia avaliou um total de 139 amostras de água

superficial oriundas de sete lagos e 15 rios no sudoeste deste país, durante cinco estações consecutivas (do outono 2000 ao outono de 2001). As amostras foram analisadas para a presença de patógenos entéricos (*Campylobacter* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., e noroviruses) e indicadores de contaminação de origem fecal (coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, e bacteriófagos de F-RNA). Das amostras analisadas, 41% foram positivas para pelo menos um patógeno; 17,3% foram positivas para *Campylobacter* spp.; 13,7% para *Giardia* spp.; 10,1% para *Cryptosporidium* spp. e 9,4% foram positivas para norovírus. A ocorrência de enteroparasitas nas amostras de água apresentou sazonalidade, com menor número de amostras positivas no inverno ($p < 0,05$). Os autores observaram, ainda, correlação positiva entre a presença de coliformes termotolerantes, *E. coli*, e *C. perfringens*. ($p < 0.001$) (HÖRMAN et al., 2003).

Estudo desenvolvido no Brasil avaliou a ocorrência de protozoários patogênicos, especificamente *Giardia* e *Cryptosporidium*, e bactérias indicadoras de contaminação fecal (coliformes termotolerantes, estreptococos fecais e *Clostridium perfringens*) em fontes de água no estado de São Paulo. Durante um período de 19 meses, 278 amostras de água de 28 locais situados em 10 bacias hidrográficas foram analisadas como parte de um trabalho desenvolvido pela CETESB. Os resultados revelaram que *Giardia* e *Cryptosporidium* foram detectados em 27% e em 2,5% das 278 amostras, respectivamente, com concentrações que variam “do não detectado” a 521 cistos/L para *Giardia*, e “do não detectado” a 20 oocistos/L para *Cryptosporidium*. Foi observada semelhança na ocorrência de bactérias indicadoras de contaminação fecal e cistos de *Giardia*. Os valores de médias geométricas para coliformes termotolerantes, estreptococos fecais e *Clostridium perfringens* variaram de 10^3 a 10^4 MNP/100mL nos locais onde o número de amostras positivas para *Giardia* era elevado. Da mesma forma, as bacias onde cistos de *Giardia* foram raramente detectados apresentaram baixas concentrações de bactérias indicadoras de contaminação fecal. Os autores destacam que, embora tais bactérias não sejam consideradas bons indicadores da presença de protozoários na água, foram encontrados coeficientes de correlação altamente significativos entre *Giardia* e bactérias indicadoras de contaminação fecal (coliformes, estreptococos e *C. perfringens*) para as 278 amostras ($p < 0,0001$). A mesma análise não pode ser realizada para *Cryptosporidium* pelo baixo número de amostras positivas (HACHINCH et al., 2004).

No estudo desenvolvido por Rose et al. (1988), 39 amostras de água foram analisadas para presença de (oo)cistos de protozoários e outros parâmetros (turbidez, coliformes totais e fecais). Nesse estudo não se observou correlação entre protozoários e bactérias indicadoras de contaminação fecal, o que permitiu aos autores concluir que estes parâmetros não são adequados como indicadores da presença de protozoários.

Outro estudo avaliou a ocorrência comparativa de *Cryptosporidium* e *Giardia* em 257 amostras de água de 17 estados nos Estados Unidos, revelando que não houve nenhuma correlação entre a concentração de bactérias indicadoras da qualidade de água e *Giardia* e, ou, *Cryptosporidium* (ROSE et al., 1991).

2.6. Técnicas de detecção de protozoários em amostras ambientais: vantagens, desvantagens e limitações

Os métodos de detecção e recuperação de protozoários na água envolvem três passos fundamentais: concentração da amostra de água com a finalidade de recuperar ou capturar (oo)cistos; purificação dos (oo) cistos e identificação e confirmação. Basicamente a primeira etapa é realizada através da filtração de volumes variados, centrifugo-concentração ou eluição dos microrganismos. A etapa de purificação tem sido amplamente estudada e pode ser obtida através de gradientes de sacarose ou pela separação imunomagnética. A terceira e última etapa, a de identificação e confirmação, geralmente é obtida através de visualização em microscopia com imunofluorescência direta e prova confirmatória da morfologia através de microscopia de contraste de fase seguida de enumeração dos (oo)cistos.

Conforme descrito por Cantusio Neto (2004), Musial et al. (1987) desenvolveram um método para detecção e recuperação de (oo)cistos de protozoários através de filtros de cartucho de polipropileno com porosidade de 1µm. Segundo essa técnica, grandes volumes de água (100 L a 1.000 L) são filtrados e, posteriormente, o filtro é cortado em pequenas partes. O material obtido após corte é então acrescido de Tween 80 a 0,1% (detergente) e posteriormente levado a um shaker para eluição e extração mecânica dos (oo)cistos a partir das fibras do filtro. A etapa de purificação é obtida com o uso de sacarose-Percol ou solução de cloreto de sódio e a visualização, mediante a imunofluorescência. Embora os autores destaquem a capacidade do método para detectar < 1 (oo)cisto por litro, essa metodologia apresenta algumas limitações e sofre muita influência da concentração do

inóculo. Segundo Musial et al. (1987), a eficiência de recuperação variou de 14,5% a 44,0% quando a concentração do inóculo foi alterada de 10^2 para 10^6 oocistos. Outra limitação que deve ser destacada é a incapacidade de fornecer informações sobre a espécie ou a infectividade dos (oo) cistos. Essa técnica foi inicialmente adotada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (USEPA) como técnica padrão para detecção de (oo)cistos em amostras de água (USEPA, 1996).

A técnica de floculação química com carbonato de cálcio foi proposta como método de concentração de volumes de 10 L de água por precipitação (VESEY et al., 1993). Em uma primeira etapa, são adicionadas soluções de cloreto de cálcio e bicarbonato de sódio aos volumes de até 10 L de amostra, a seguir, o pH é ajustado para 10,0 (com hidróxido de sódio) posteriormente a preparação é mantida em repouso por um período de 4 a 8 horas em temperatura ambiente. O sobrenadante é então aspirado com auxílio de uma bomba de vácuo e o precipitado é dissolvido com ácido sulfâmico; a suspensão obtida é centrifugada e analisada em imunofluorescência. O sedimento resultante é extremamente rico em material particulado, interferindo na leitura de imunofluorescência, podendo resultar em falso-positivos. Variações nas concentrações dos reagentes e do pH causam uma diminuição do número de organismos floculados. Esse método também não fornece informações sobre a espécie ou infectividade e possui eficiência de recuperação entre 30,0% a 40,0% (FRICKER; CRABB, 1998; CANTUSIO NETO, 2004).

A técnica de filtração em membranas foi proposta por Aldom e Chagla, (1995) e, conforme descrição de Cantusio Neto (2004), inicialmente foi desenvolvida para detecção de (oo)cistos em água tratada, sendo posteriormente aplicada em amostras de água bruta (ONGERTH; STIBBS, 1987). Consiste na captura dos oocistos através da filtração em membranas de acetato de celulose, seguida de eluição por dissolução em acetona e etanol. A turbidez da água é o maior fator limitante, pois pode ocorrer rápida obstrução da malha filtrante, com conseqüente redução do volume filtrado. O método sofre influência do processo de eluição nas etapas de dissolução em acetona e pode alterar a infectividade dos (oo)cistos (CARRENO et al., 2001). A média de recuperação da metodologia de membrana filtrante pode chegar a 70,5% (ALDOM; CHAGLA, 1995). Um protocolo alternativo foi desenvolvido no Brasil por Franco et al. (2001) no qual a recuperação dos (oo)cistos é feita por extração mecânica, fazendo-se raspagem e lavagem da superfície da membrana,

evitando assim as perdas de infectividade.

Após alguns surtos de criptosporidiose veiculados pela água de consumo surgiu a necessidade de desenvolver um novo método para detectar os patógenos na água, no entendimento de que as técnicas até então utilizadas apresenta desvantagens em comum como: (i) baixa eficiência de recuperação; (ii) taxas elevadas de falsos positivos e falsos negativos e (iii) baixa precisão.. Em 1997, a USEPA desenvolveu o método 1622 para a detecção de *Cryptosporidium* na água através de filtração, separação imunomagnética (IMS) e imunofluorescência. O método era inovador e apresentava as seguintes vantagens: (i) novo filtro aumentando a eficiência da captação e da eluição dos oocistos; (ii) incorporação da separação imunomagnética reduzindo falsos positivos e interferências inespecíficas; (iii) uma etapa adicional na confirmação e identificação dos (oo)cistos com inclusão do corante 4',6-Diamidino-2-fenilindol (DAPI) e prova confirmatória da morfologia através de microscopia de contraste de fase e (iv) incorporação de medidas de controle de qualidade (McCUIN; CLANCY, 2003).

Posteriormente, o método 1623 foi desenvolvido visando a detecção conjunta de *Giardia* e *Cryptosporidium*, pelo mesmo processo de filtração, separação imunomagnética e imunofluorescência. Estudos originais de validação do método usaram a cápsula Envirochek (Pall Gelman®), entretanto outros filtros também foram validados como Filta-Max (IDEXX®). Comprovadamente a IMS é uma alternativa superior às técnicas da flutuação com gradientes de sacarose para isolar (oo)cistos de em amostras ambientais. Experimentos foram conduzidos para avaliar as taxas de recuperação de (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium* utilizando o sistema Filta-Max (IDEXX®) com os métodos 1622 e 1623 (USEPA). As porcentagens da recuperação das amostras de água bruta variaram de 19,5 a 54,5% para oocistos de *Cryptosporidium* e 46,7 a 70,0% para cistos de *Giardia* (Mc CUIN; CLANCY, 2003).

No trabalho desenvolvido por Hsu e Huang (2000) obteve-se uma porcentagem média de recuperação de oocistos de *Cryptosporidium* spp de $69,3\% \pm 13,3\%$ com IMS, comparada a $29,9\% \pm 20,3\%$ com a flutuação em gradientes de sacarose. Já para cistos de *Giardia* spp.a porcentagem média da recuperação foi de $78,6\% \pm 13,8\%$ com IMS, enquanto somente $22,7\% \pm 14,0\%$ usando a flutuação em gradientes de sacarose, tendo sido

testadas as mesmas amostras de água.

Atualmente, novos métodos estão sendo incorporados à etapa confirmatória da pesquisa de protozoários em amostras ambientais e clínicas. A utilização de metodologias moleculares tem se destacado e constitui, hoje, parte integrante do estudo da epidemiologia das doenças infecto-contagiosas. Tem como principal objetivo a avaliação de fatores associados ao ambiente e ao hospedeiro que possam auxiliar no entendimento da dinâmica dos patógenos no ambiente, resultando assim em medidas preventivas que visem a minimização do risco de transmissão. Nesse sentido, o seqüenciamento direto de alguns genes e o uso de microssatélites constituem importantes ferramentas moleculares na genotipagem e subgenotipagem de isolados de agentes como o *Cryptosporidium*. A caracterização de isolados clínicos e ambientais de *Cryptosporidium* tem sido possível com a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e análise da extensão do polimorfismo dos fragmentos de restrição (RFLP) dos produtos obtidos da nested-PCR., tendo como alvo para amplificação os genes COWP e 18S rDNA (COUPE et al., 2005; SILVA et al., 2006). Essa metodologia apresenta como principal vantagem a genotipagem com vistas a desvendar a espécie, indicando a origem dos microrganismos eventualmente isolados, entretanto não possui a capacidade de fornecer informações relativas à infectividade das formas de (oo)cistos encontradas. É importante ressaltar que a metodologia molecular não dispensa as etapas anteriores de concentração e purificação dos (oo) cistos.

O quadro abaixo resume as principais características dos métodos usados para detecção e recuperação de protozoários em amostras ambientais (Quadro 9). Ressaltamos que não existe um método ideal, todos possuem vantagens e desvantagens. A escolha do método a ser trabalhado deve estar pautada, principalmente, nos objetivos do trabalho, na infra-estrutura e nos recursos disponíveis.

Quadro 9 - Principais características dos métodos usados para detecção e recuperação de protozoários em amostras ambientais

MÉTODOS	VANTAGENS	DESVANTAGENS	RECUPERAÇÃO (%)	REFERÊNCIA
Filtração em cartucho de polipropileno	Processo físico não interfere na infectividade dos (oo)cistos	Requer grandes volumes de água, (100 a 1000 L). Grande variabilidade na recuperação. Perdas e risco de contaminação no processo mecânico de extração. Não fornece informações sobre a espécie e infectividade dos (oo)cistos.	14,5% a 44,0%	Musial et al. (1987)
Floculação química com carbonato de cálcio	Volumes de água reduzidos (10 litros)	Sedimento rico em material particulado, (imunofluorescência falso-positivos) Não fornece informações sobre a espécie e infectividade dos (oo)cistos. Os agentes químicos podem alterar infectividade dos (oo)cistos.	30 a 40%	Vesey et al.(1993) Fricker e Crabb. (1998)
Membrana Filtrante	Processo físico não interfere na infectividade dos (oo) cistos Boa recuperação	Turbidez da água - obstrução da malha filtrante e (oo)cistos presos na matriz. Influência dos métodos de eluição (acetona ou extração mecânica). Não fornece informações sobre a espécie e infectividade dos (oo)cistos.	25,5 a 70,5%	Aldom e Chagla (1995)
Método 1622/1623	Purificação do sedimento por separação imunomagnética. Redução de falsos positivos e interferências inespecíficas. Inclusão de DAPI e Contraste de fase	Alto custo para IMS. Interferência da turbidez, ferro e pH da amostra. Não fornece informações sobre a espécie e infectividade dos (oo)cistos.	19,5 a 54,5% para oocistos e 46,7 a 70,0% para cistos na água bruta <1,7 a 56,6 (água artificialmente contaminada)	McCuin e Clancy (2003) DiGiovanni et al. (1999)

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Realizar análise epidemiológica, ambiental e espacial da área da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu identificando focos de poluição pontual e difusa que possam alterar a qualidade microbiológica da água do manancial.

3.2. Objetivos específicos

- Pesquisar a existências de infecção por *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. na população animal existente na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.

- Pesquisar a existência de enteroparasitas na população humana menor de 10 anos residente na área da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.

- Monitorar parâmetros de qualidade microbiológicos e físicos na água bruta do Ribeirão São Bartolomeu e seus afluentes.

- Monitorar parâmetros de qualidade microbiológicos e físicos no efluente de uma Estação de Tratamento de Esgotos e de duas suinoculturas localizadas na bacia hidrográfica em estudo.

- Realizar estudos de correlação entre os diferentes parâmetros de monitoramento da qualidade da água com especial atenção aos (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium*.

- Desenvolver análise espacial correlacionando focos de poluição pontual e difusa com a qualidade microbiológica da água.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho resulta da consolidação de três estudos realizados na área da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, realizados em períodos de tempos diferentes. A seguir serão descritos os materiais e métodos utilizados na elaboração de cada um deles, sendo que os mesmos serão denominados Estudo 1, Estudo 2 e Estudo 3, com o intuito de facilitar a compreensão dos procedimentos adotados, um resumo dos materiais e métodos adotados em cada estudo está apresentado ao final desse tópico, no Quadro 10. A princípio, entretanto, será descrita a área geográfica estudada, a bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.

4.1. Caracterização da área de estudo e definição dos pontos de monitoramento

O município de Viçosa, localizado na Zona da Mata de Minas Gerais ocupa uma área de 299,4 km² (Figura 1). O centro do município localiza-se a uma latitude 20°45'14" sul e a uma longitude 42°52'55" oeste, estando a uma altitude de 648 metros. Possui cerca de 74.607 habitantes (população estimada para 1/06/2006 segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE¹) basicamente concentrados na zona urbana (aproximadamente 90%). Apresenta cobertura dos serviços básicos de saneamento superior às médias estadual e nacional: cerca de 88% da população são atendidos por sistemas de coleta de esgotos e 98% por abastecimento de água (SAAE, 2007)². Entretanto, o tratamento de esgotos é ainda praticamente inexistente.

¹ <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2006/estimativa.shtm>

² <http://www.saaevicosa.com.br>

A cidade dispõe de seis sistemas públicos de abastecimento de água. Cinco deles são operados pelo Serviço Autônomo de Água e Esgotos (SAAE), uma autarquia municipal, e abastecem a população residente na zona urbana do município. Adicionalmente, a Universidade Federal de Viçosa (UFV) possui seu próprio sistema, Estação de Tratamento de Água (ETA/UFV), incluindo a captação, tratamento e distribuição, o qual abastece cerca de 15.585³ pessoas que trabalham, estudam e residem no campus universitário.

O sistema UFV e o sistema ETA I do SAAE servem-se do mesmo manancial superficial, o Ribeirão São Bartolomeu, o sistema ETA II do SAAE utiliza outro manancial, o Rio Turvo Sujo. Estes mananciais não são protegidos da contaminação humana ou animal durante o seu curso até os pontos de captação e percorrem áreas de intensa atividade agropecuária por pequenos produtores rurais.

Os outros três sistemas de abastecimento são também operados pelo SAAE, porém utilizam mananciais subterrâneos, aquíferos artesianos, e abastecem a população de três distritos pertencentes ao município: São José do Triunfo, Cachoeira de Santa Cruz e Novo Silvestre.

Segundo informações obtidas junto às estações de tratamento, a água distribuída pelos dois sistemas é sistematicamente monitorada (na entrada e nas pontas das respectivas redes de distribuição), satisfazendo plenamente o padrão de potabilidade estabelecido pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2004).

A bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu (RSB) abrange uma área de, aproximadamente 5.534 hectares. A área de estudo compreendeu a bacia hidrográfica à montante do município, em uma extensão de aproximadamente 2.000 hectares, caracterizada por intensa atividade agropecuária desenvolvida por pequenos produtores rurais e, mais recentemente, expansão urbana, com a implantação paulatina de condomínios e loteamentos. Nessa região, o RSB recebe o aporte hídrico de sete córregos, a partir dos quais se delimitaram as sub-bacias monitoradas, nomeadas a partir da denominação do curso d'água principal: sub-bacia 1: Córrego "São Lucas", sub-bacia 2: Córrego dos Machados, sub-bacia 3: Córrego Santa Catarina, sub-bacia 4: Córrego Paraíso, sub-bacia 5:

³ Segundo Pró-reitoria de Planejamento e Orçamento – UFV, 2007.

Córrego Palmital, sub-bacia 6: Córrego “Antuérpia”, sub-bacia 7: Córrego do Engenho⁴.

As sub-bacias foram delimitadas com auxílio de um mapa do IBGE, através das curvas de nível. Em cada sub-bacia, definiu-se um ponto de coleta de água imediatamente antes do encontro com o Ribeirão São Bartolomeu. Após definição das sub-bacias, procedeu-se, em cada uma delas, ao levantamento de todas as propriedades rurais com exploração animal, as comunidades de moradores existentes na área e, adicionalmente, os pontos de descarga de esgoto sanitários nos cursos d’água. Posteriormente foi detectada a existência de uma sub-bacia referente ao próprio Ribeirão São Bartolomeu a qual também foi nomeada a partir da denominação do curso d’água, sendo a sub-bacia ‘Ribeirão São Bartolomeu’. A localização espacial dos locais discriminados acima está apresentada na Figura 2.

⁴ Os nomes das sub-bacias Córrego “São Lucas” e Córrego “Antuérpia” não são oficialmente reconhecidos pelo IBGE, sendo as denominações referenciadas pelas pessoas residentes na área ou em localidades próximas.

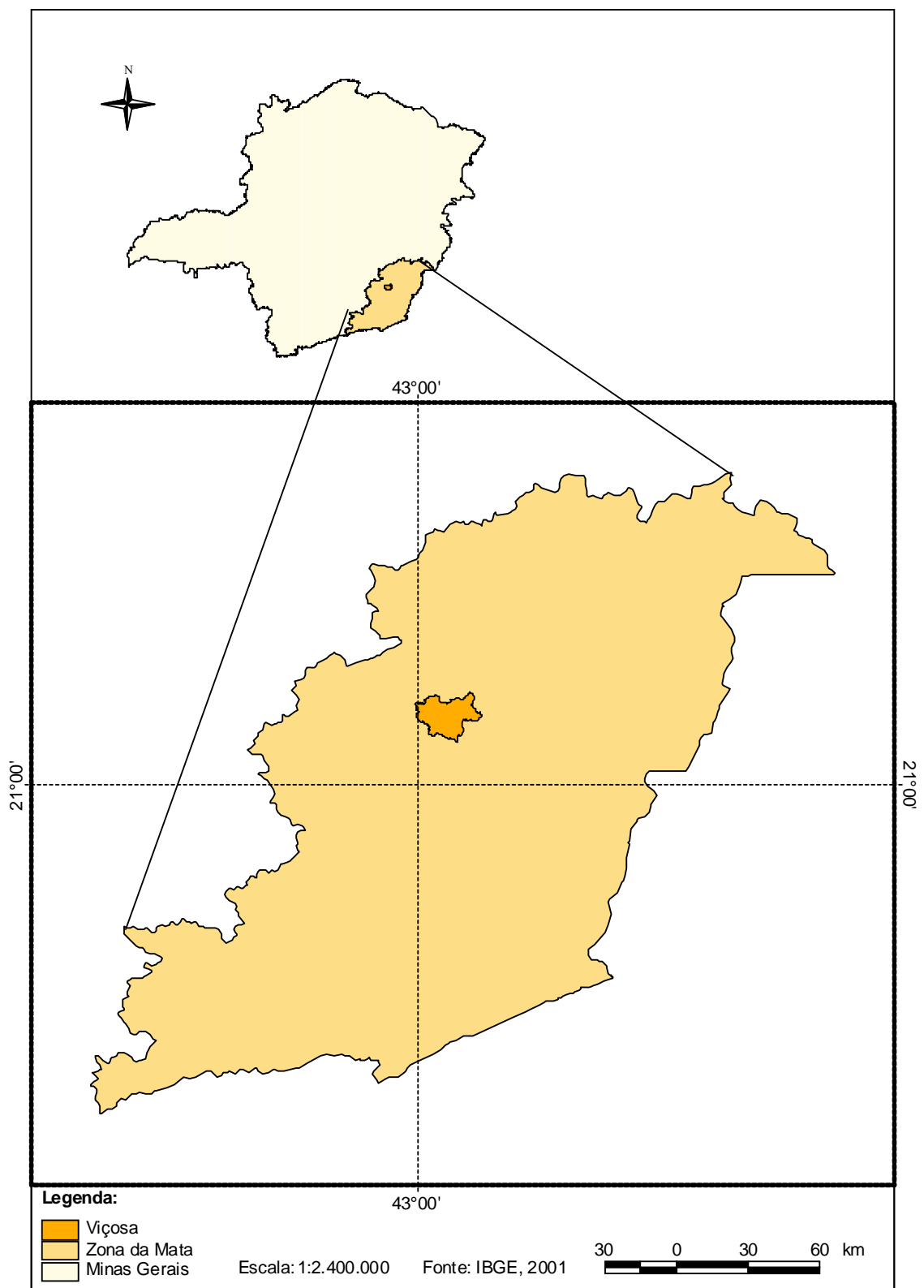


Figura 1 – Localização do município de Viçosa – Zona da Mata de Minas Gerais, 2007.

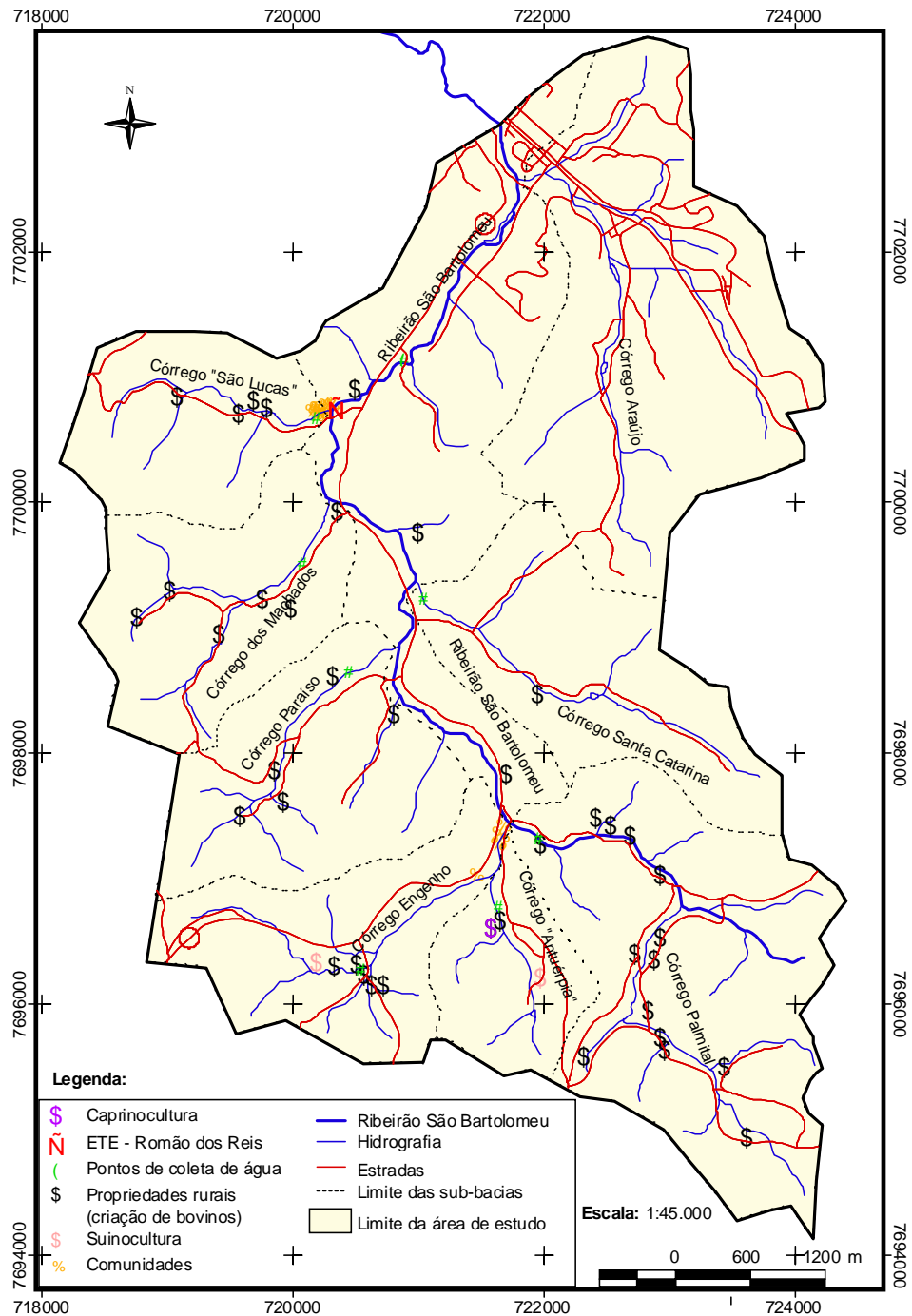


Figura 2 – Localização dos pontos de coleta de água, propriedades rurais e comunidades estudadas na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG, 2007.

4.2. Estudo 1: Impacto causado por populações animais na qualidade parasitológica do Ribeirão São Bartolomeu

4.2.1. Coleta e análise de amostras ambientais

A partir da definição dos pontos para o monitoramento da qualidade parasitológica (Figura 2 e Figura 3), foram coletadas amostras de água para a pesquisa de (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium*, pela técnica da concentração por floculação com carbonato de cálcio (VESEY et al., 1993) e enumeração com imunofluorescência (kit MERIFLUOR®⁵). Os pontos foram monitorados durante o período de um ano (janeiro de 2003 a janeiro de 2004), trimestralmente, em paralelo às coletas de material fecal dos animais.

Adicionalmente, foram coletadas amostras dos efluentes brutos de duas suinoculturas e do efluente de uma estação de tratamento de esgoto do bairro Romão dos Reis, operada pelo SAAE-Viçosa, e constituída por tanque séptico-filtro anaeróbio (Figura 2 e Figura 4).

Para pesquisa de protozoários nas amostras de esgoto foi utilizada a técnica descrita por Vieira et al. (1999), que consiste em centrifugo-concentração adaptada para amostras de esgotos sanitários. Dois litros de esgoto foram passados em peneira de malha igual a 0,0007 cm para retirada dos resíduos maiores e, posteriormente, foram centrifugados à 3000 rpm por 20 minutos, reservando-se sempre os sedimentos obtidos. Após homogeneização, os sedimentos foram centrifugados por 10 minutos com a adição de éter (5:1) para a retirada de gordura, e armazenado em geladeira até o momento da identificação. A enumeração dos (oo)cistos foi realizada com o uso do kit de diagnóstico MERIFLUOR®⁶ pela técnica de imunofluorescência direta.

⁵ Meridian Diagnostics, Inc.

⁶ Meridian Diagnostics, Inc.



Figura 3 - Pontos de coleta de água na bacia hidrográfica do RSB. (A) Ribeirão São Bartolomeu. (B) Córrego “São Lucas”. (C) Córrego dos Machados. (D) Córrego Santa Catarina. (E) Córrego Paraíso. (F) Córrego Palmital. (G) Córrego “Antuérpia”. (H) Córrego do Engenho.



Figura 4 - Pontos de coleta de dejetos de duas suinoculturas existentes na bacia do RSB. (A) Suinocultura na sub-bacia Córrego “Antuérpia”. (B) Suinocultura na sub-bacia Córrego do Engenho.

Resumidamente, a técnica de detecção de cistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas amostras de água está descrita a seguir (VESEY et al., 1993). Todo o material utilizado foi devidamente esterilizado em autoclave e os galões (10 L) eram desinfetados com solução de hipoclorito de sódio a 12,5%, e em seguida enxaguados com tiosulfato de sódio a 52% e água destilada estéril, segundo Ferguson et al. (1996).

4.2.1.1. Concentração da amostra para pesquisa de protozoários

Para concentração das amostras de água coletou-se um volume de 10 litros de amostra em balão de fundo chato de 12 L estéril; (Figura 5), homogeneizou-se e adicionou-se, separadamente, 100 mL de cloreto de cálcio 1 M e 100 mL de bicarbonato de sódio 1 M. O pH foi calibrado para um valor de 10,0 com adição de hidróxido de sódio 1 M e posteriormente amostra ficou em repouso durante 4 horas ou *over night*, à temperatura ambiente (Figura 5b). O sobrenadante foi retirado por aspiração a vácuo; realizou-se a dissolução do resíduo formado com adição de 200 mL de uma solução de ácido sulfâmico a 10%, o líquido obtido foi reservado em caçapas cônicas de 250 mL para a realização da centrifugação. O balão foi enxaguado com 200 mL de solução de Tween 80 a 0,01% com homogeneização vigorosa; o processo foi repetido com 100 mL de solução de Tween 80 a 0,01% e todo o líquido obtido foi reservado na caçapa cônica de 250 mL.

A primeira centrifugação foi realizada a 3.000 rpm durante 10 minutos; o sobrenadante foi removido deixando um volume aproximado de 50mL em cada caçapa para ressuspensão dos *pellets* formados; os materiais foram transferidos para tubos cônicos de

50 mL; realizou-se a segunda centrifugação a 3.000 rpm por 10 minutos; o fluido sobrenadante; foi removido e realizou-se a lavagem dos tubos cônicos iniciais utilizados na centrifugação com 50mL de solução de Tween 80 a 0,01%. A terceira centrifugação também foi realizada a 3.000 rpm durante 10 minutos; o sobrenadante foi descartado deixando um volume de aproximadamente 10 mL para ressuspensão dos pellets formados; o material foi acondicionado em geladeira até a realização da técnica de imunofluorescência.

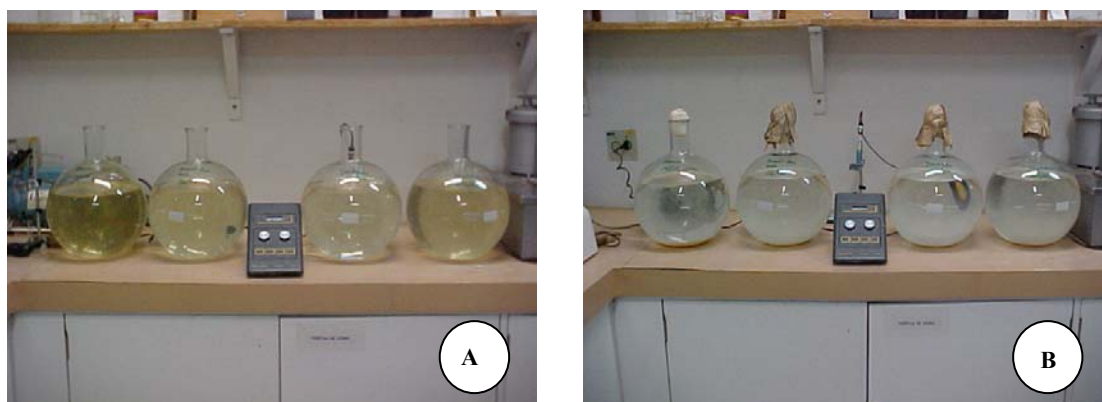


Figura 5 - Etapas do processo de floculação com carbonato de cálcio. (A) Etapa inicial. (B) Etapa final após *over night*

4.2.1.2. Técnica da imunofluorescência

A técnica de imunofluorescência foi realizada segundo a descrição a seguir: inicialmente todos os reagentes do Kit Merifluor[®] C/G (Meridian Diagnostics, Inc.), usados na identificação de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*, em amostras clínicas, foram retirados da geladeira e mantidos à temperatura ambiente; adicionou-se alíquotas de 10 μ L retiradas dos tubos armazenados, contendo o volume final de 10 mL, em cada um dos poços das lâminas devidamente identificados; adicionar 10 μ L dos controles positivo e negativo nos respectivos poços das lâminas; o material inoculado foi espalhado em cada poço das lâminas com alças de inoculações descartáveis e as lâminas secaram em temperatura ambiente. Somente após a completa secagem das lâminas, estas foram submetidas à técnica de imunofluorescência.

Para realização da imunofluorescência adicionou-se uma gota do reagente marcado, anticorpos monoclonais gênero específico conjugados a fluoresceína-isothiocianato (FITC-mAb) e uma gota do reagente contracorante (solução de negro do eriocromo) em cada um

dos respectivos poços das lâminas. As lâminas foram então colocadas em câmara úmida e incubadas durante 30 minutos, à temperatura ambiente.

Realizou-se a rinsagem com a solução do kit devidamente diluída em solução de PBS (1:20); o excesso da solução de rinsagem foi removido com auxílio de papel de filtro. Adicionou-se uma a duas gotas do meio de montagem com glicerol proveniente do kit em cada poço das lâminas e acrescentou-se a lamínula para realizar a observação em microscopia de imunofluorescência. As lâminas já montadas foram mantidas em câmara úmida e com refrigeração até o momento da leitura.

Após a contagem de cada amostra e utilizando-se a média aritmética das duas análises (dois poços para cada amostra), o número total de cistos e, ou, oocistos foram calculados de acordo com a fórmula a seguir (PALMATEER et al., 1996) (Figura 6).

$$n = \frac{m \cdot 100 \cdot v}{V} \quad (1)$$

Onde:

n = número de (oo)cistos/L

m = média de contagem de (oo)cistos

v = volume do sedimento em 10 mL

V = volume da amostra em L

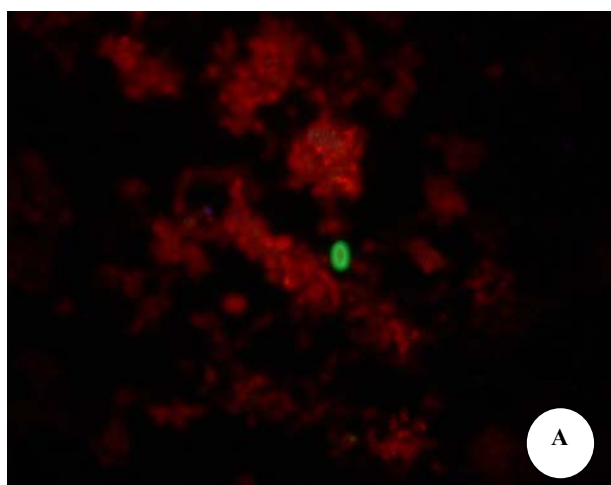


Figura 6 - Cisto de *Giardia* spp. (A) Imunofluorescência direta 400x - Amostra do RSB, Viçosa-MG, 2004.

4.2.2. Coleta de material e exame coprológico animal

A avaliação do papel que explorações animais na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu possam representar na qualidade parasitológica da água bruta foi realizada através do exame de amostras fecais colhidas de animais existentes nessa área. Para tanto, foi realizado levantamento de propriedades rurais que desenvolviam atividades de exploração animal nesse local.

As propriedades foram acompanhadas durante o período de um ano (janeiro de 2003 a janeiro de 2004), sendo coletadas amostras fecais trimestrais dos animais existentes no local. Na ausência de sinais clínicos, as fezes foram acondicionadas em conjunto representando uma amostra da propriedade; se, por ventura, existissem animais com sinais clínicos de doença gastro-entérica, as amostras fecais foram analisadas separadamente.

O material fecal foi encaminhado ao Setor de Medicina Veterinária Preventiva do Departamento de Veterinária para análise. A pesquisa de cistos de *Giardia* foi realizada pela metodologia de Faust que se fundamenta no princípio da centrifugação e flutuação com Sulfato de Zinco, e lugol para visualização em microscopia ótica. A pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi realizada através da coloração de Zielh Neelsen modificada e a leitura da lâmina foi realizada sob imersão (Figura 7).

Adicionalmente, foram colhidas, através de questionário (Apêndice A), informações referentes à idade e manejo dos animais para caracterização da população animal e definição de fatores de risco associados à infecção.

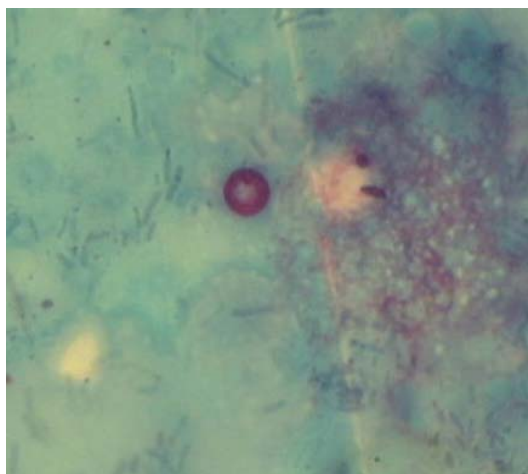


Figura 7 – Oocisto de *Cryptosporidium* spp. amostra fecal de caprinos, 1000x Viçosa-MG, 2004.

4.3. Estudo 2: Enteroparasitas na população humana residente na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu e impactos na qualidade parasitológica da água bruta

Em um segundo momento, compreendendo o período de julho de 2004 a junho de 2005, foi realizado estudo epidemiológico com delineamento transversal para avaliação da prevalência de exames de fezes positivos para cistos de *Giardia* spp. oocistos de *Cryptosporidium* spp. e demais enteroparasitas em populações humanas residentes na bacia de hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu.

Considerando que as crianças retratam melhor a condição higiênico-sanitária do local onde habitam (COSTA-MACEDO et al., 1998), esse estudo teve como foco a população infantil de zero a dez anos de idade.

Os participantes foram acompanhados durante o período de um ano (julho de 2004 a junho de 2005), sendo coletadas amostras fecais trimestralmente de crianças residentes na área. Adicionalmente, foram coletadas, através de questionário (Apêndice B), informações demográficas, sócio-econômicas e de saneamento local para caracterização do perfil populacional estudado e definição de fatores de risco associados à infecção. A condução da entrevista e a coleta de material fecal humano foram realizadas após a concordância do entrevistado em participar do projeto através da leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice C). A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Departamento de Veterinária (Apêndice D), e pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (Apêndice E).

A pesquisa de enteroparasitas foi realizada em duas comunidades existentes na bacia hidrográfica do RSB. A primeira comunidade constitui um bairro do município de Viçosa, bairro Romão dos Reis; a segunda foi representada por um aglomerado de moradores residentes à margem da rodovia MG 280, que liga o município de Viçosa a Paula Cândido, conhecida como Vila D. Elisa de Paula.

Foram coletadas, paralelamente às coletas das amostras fecais humanas, amostras do efluente da ETE-Romão dos Reis e amostra da água bruta do RSB após receber as descargas de esgotamento sanitário das populações estudadas.

4.3.1. Coleta de material e exame coprológico humano

A coleta do material fecal humano foi realizada trimestralmente durante o período de um ano (julho de 2004 a junho de 2005). Foi solicitado ao responsável pelo menor que coletasse material fecal no dia indicado, sendo para isso fornecido frasco próprio, devidamente esterilizado, para o acondicionamento das fezes contendo meio preservante. Eram fornecidos dois frascos, um contendo formalina 10% e outro contendo bicromato de potássio 2,5%, este último era destinado à pesquisa de *Cryptosporidium* spp.

As fezes recolhidas foram encaminhadas ao Setor de Medicina Veterinária Preventiva do Departamento de Veterinária para pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp. através da coloração de Ziehl Neelsen modificada descrita anteriormente. A outra parte foi destinada ao laboratório de análises clínicas da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa para pesquisa de enteroparasitas pelo método HPJ de sedimentação espontânea.

4.3.2. Coleta das amostras ambientais

Com relação à amostra ambiental do efluente da ETE-Romão dos Reis, as coletas foram realizadas trimestralmente e paralelamente às coletas das amostras fecais, a técnica realizada foi a de centrifugação adaptada para amostras de esgotos sanitários descrita por Vieira et al. (1999), descrita anteriormente no Estudo 1. A enumeração dos (oo)cistos foi realizada com o uso do kit de diagnóstico MERIFLUOR®⁷ pela técnica de imunofluorescência direta.

Nos mesmos momentos de coleta de amostras fecais e de esgoto, foram coletadas amostras de água do Ribeirão São Bartolomeu para pesquisa de protozoários. A metodologia utilizada para concentração das amostras também foi a descrita por Vesey et al. (1993) seguida de detecção por imunofluorescência direta (kit MERIFLUOR®⁸).

4.4. Estudo 3: Parâmetros da qualidade microbiológica e parasitológica da água na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu

Nessa etapa, realizou-se monitoramento da qualidade parasitológica da água bruta na bacia hidrográfica do RBS. Para tanto, os oitos pontos de coleta de água estudados

⁷ Meridian Diagnostics, Inc.

⁸ Meridian Diagnostics, Inc.

anteriormente foram monitorados durante o período de seis meses, janeiro a junho de 2007.

A qualidade da água foi avaliada mensalmente através da pesquisa de esporos anaeróbios e aeróbios, e quinzenalmente através da pesquisa de estreptococos e enterococos, *E. coli*, totais fecais e (oo)cistos de *Giardia e Cryptosporidium*. Foi realizada a determinação da turbidez em todas as amostras coletadas e, em dois momentos, foi realizada a medição de vazão nas sete sub-bacias e no RSB, representando o período das chuvas e a época seca.

Adicionalmente, a qualidade do efluente da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) do bairro Romão dos Reis e de uma suinocultura ainda existente na bacia hidrográfica do RSB foram avaliados para presença de protozoários, estreptococos e enterococos.

4.4.1. *Streptococcus e Enterococcus*

Para a pesquisa de estreptococos foi utilizada a técnica de membrana filtrante descrita no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998). Foram utilizadas três diluições (0,1; 0,01; 0,001) de cada amostra de água, com volume final de 100 mL por diluição. As amostras foram filtradas em membrana de 47 mm de diâmetro e poros de 0,45 µm de diâmetro. Após a filtração as membranas foram colocadas assepticamente em placas de petri contendo o meio de cultura seletivo e diferencial Agar “KF *Streptococcus*” (HIMEDIA) com suplemento da solução Cloreto 2,3,5-Trifenil Tertazólio 1% (TTC) posteriormente foram incubadas à 37°C por 24/48 horas.

Após esse período, foram selecionadas placas com 20 a 200 colônias para contagem. A partir do número de colônias típicas (vermelhas ou róseas) que se desenvolverem na membrana filtrante foi calculada a densidade presuntiva de estreptococos fecais e enterococos expressa como o número de colônias ou unidades formadoras de colônias de Estreptococos fecais/100mL (UFC de estreptococos fecais/100 mL). Essa densidade é obtida pela aplicação da seguinte fórmula:

$$\text{UFC} = \frac{n \cdot 100}{v} \quad (2)$$

Onde:

UFC = unidades formadoras de colônias de estreptococos/100 mL

v = volume filtrado em mL

Cinco colônias foram então transferidas para placas de petri, contendo ágar Brain Heart Infusion (BHI), e foram incubadas a 37°C por 24 horas, para aumento da massa bacteriana (APHA, 1998) (Figura 8).

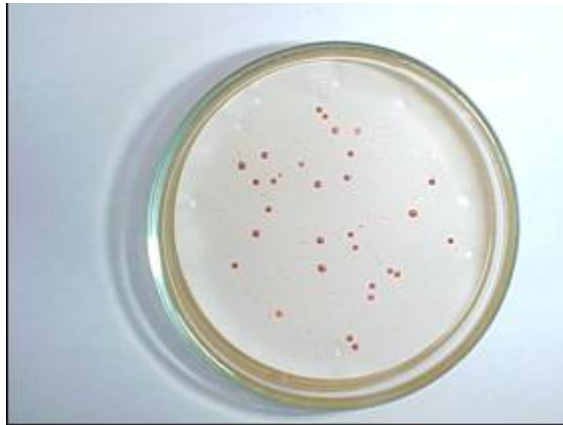


Figura 8 - Colônias típicas de estreptococos e enterococos em Agar KF, amostra RSB, Viçosa-MG, 2007.

Para os testes confirmativos e diferenciais, foram realizados o teste da catalase e a repicagem para três tubos com caldo BHI (HIMEDIA®), detalhados abaixo.

1. BHI, incubados em banho-maria a 45° C por 48 horas, apresentando resultado positivo os tubos com turvação do meio.
2. BHI, em pH 9,6, incubados em estufa a 37° C por 72 horas, apresentando resultado positivo os tubos com turvação do meio.
3. BHI, com solução de NaCl 6,5% incubados em estufa a 37° C por 48 horas, apresentando resultado positivo os tubos com turvação do meio.

Para a realização do teste da catalase, às colônias típicas (vermelhas escuras ou róseas) isoladas no ágar BHI, foram adicionados 1 mL de solução de peróxido de hidrogênio. A ausência de bolhas constituía teste de catalase negativo, indicando serem as

colônias originárias de enterococos e estreptococos.

A confirmação dos estreptococos foi obtida a partir do resultado positivo, ou seja, crescimento bacteriano com turvação do meio nos tubos contendo caldo BHI incubado à 45° C e reação de catalase negativa. Os enterococos foram confirmados com turvação do meio nos tubos BHI a 45° C, pH 9,6 e 6,5 % NaCl e reação de catalase negativa.

Após essa diferenciação, foram calculados UFC/100 mL de *Streptococcus* e *Enterococcus* para cada amostra, multiplicando o número presuntivo de colônias pela porcentagem de tubos positivos.

4.4.2. Esporos aeróbios e *Bacillus* spp.

Foi utilizada a técnica de membrana filtrante, como descrito por Rice et al. (1996). Antes da análise, a amostra foi submetida a tratamento a 37°C por 30 minutos e em seguida agitada com velocidade de 150 rpm em shaker a 60°C por 15 minutos. Posteriormente foi realizado choque térmico (banho de gelo) e filtração da amostra em sistema de vácuo através de membrana com poros de 0,45µm.

Foram utilizadas diluições de 0,01 e 0,1 de cada amostra de água com volume final de 100 mL por diluição, as amostras tiveram seu volume completado para 100 mL com água peptonada esterilizada. Após a filtração, a membrana foi colocada sobre meio azul de tripan 0,1% de amido e incubada em câmara úmida a 35°C por 20-22 horas. Após esse período, realizou-se a contagem das UFC formadas as quais foram consideradas colônias originadas de esporos de bactérias aeróbias.

As UFC características para *Bacillus* spp., colônias de coloração branca e opacas, foram repicadas em ágar amido e incubadas a 35°C por 24 horas. A confirmação para *Bacillus* spp. foi realizada pela presença de um halo de amilase formado no ágar amido. A foto abaixo ilustra características dos *Bacillus* spp. em coloração de gram (Figura 9).

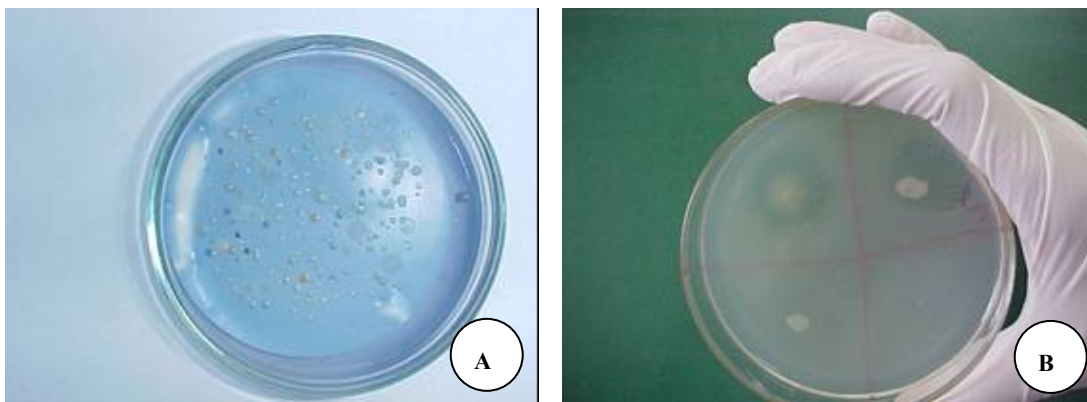


Figura 9 – *Bacillus* spp. (A) Bactérias aeróbicas em meio azul de tripan (B) Teste confirmatório para *Bacillus* spp. em ágar amido, formação do halo de amilase. Amostra do Córrego do Engenho, Viçosa – MG, 2007.

4.4.3. Esporos anaeróbios e *Clostridium perfringens*

Foi utilizada a técnica de membrana filtrante, segundo Fout et al. (1996). Inicialmente, a amostra foi mantida a 60°C por 15 minutos, em seguida realizado o choque térmico (banho de gelo) e filtração da amostra em sistema de vácuo através de membrana com poros de 0,45 µm.

Foram utilizadas duas diluições (1 e 0,1) sendo o volume final mantido em 100 mL acrescido, quando necessário, de água peptonada esterilizada. As diluições foram testadas anteriormente a fim de obter um resultado final de crescimento de colônias no intervalo de 20 a 200 UFC. Após a filtração, a membrana foi colocada em placas com meio mCP e incubado em jarra de anaerobiose a 44,5°C por 24 horas. Após esse período realizou-se a contagem de UFC, todas as UFC amarelo palha formadas e que se tornam pink após exposição ao hidróxido de amônia são provenientes de esporos anaeróbios. As UFC consideradas características foram repicadas em caldo tioglicolato e incubadas a 35° por 24 horas. O crescimento no caldo tioglicolato é indicado pela turvação e produção de gás, neste caso, 1mL do caldo foi transferido para o meio Iron Milk que foi, por sua vez, incubado em banho-maria a 44,5°C por 2 horas. O crescimento no meio Iron Milk é indicado pela ocorrência de fermentação. Para confirmação de *Clostridium perfringens* realizou-se, ainda, a coloração Gram a fim de verificar a presença de bacilos Gram positivos (Figura 10). Os resultados foram obtidos em UFC/100 mL.

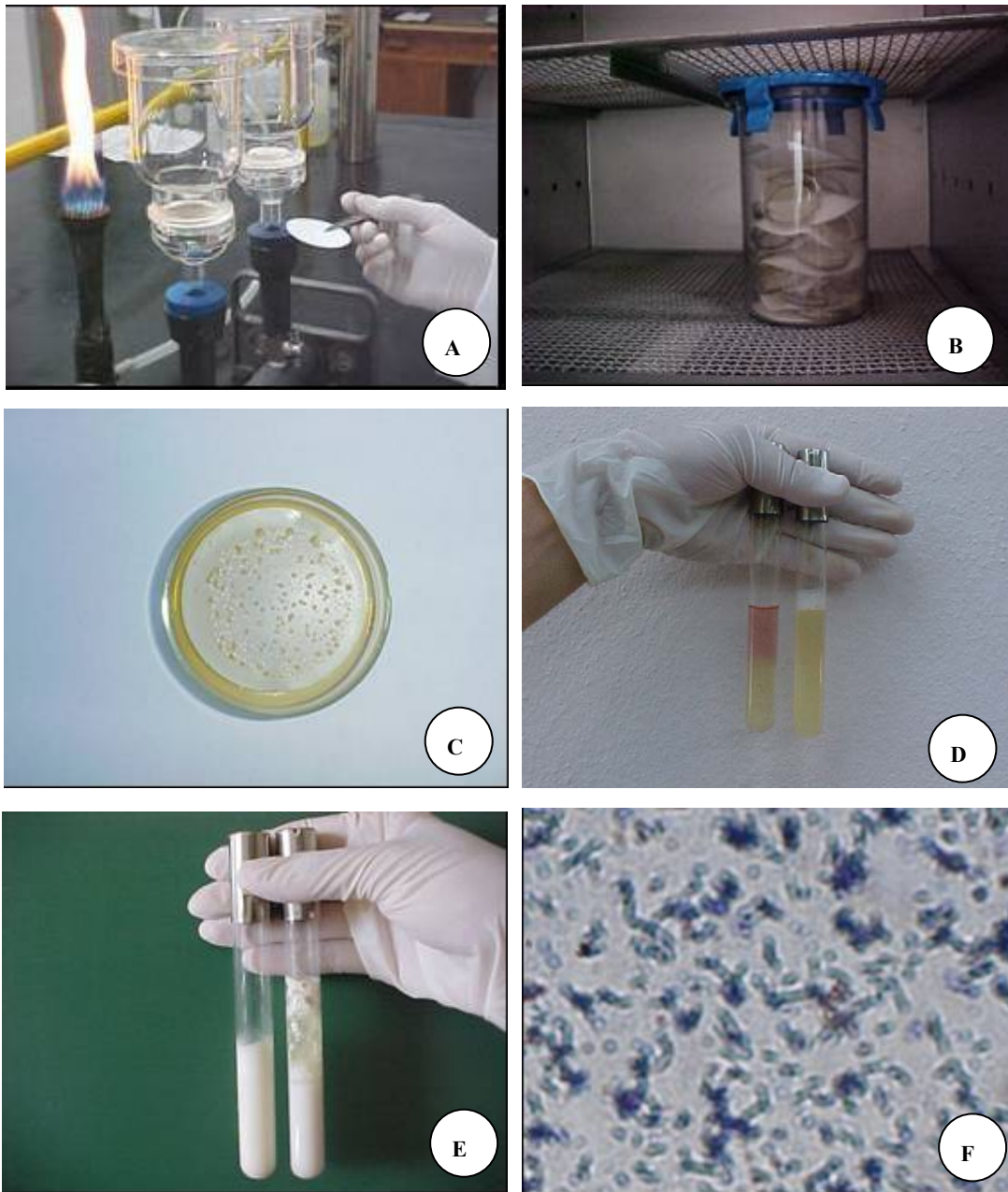


Figura 10 – Etapas para detecção de *Clostridium perfringens* (A) Filtração em membranas. (B) Incubação em jarra de anaerobiose. (C) Bactérias anaeróbicas. (D) Caldo Tioglicolato positivo e negativo. (E) Iron Milk negativo e positivo. (F) Coloração de gram, 400x.

4.4.4. Coliformes totais e *Escherichia coli*

A quantificação de coliformes totais e *E. coli* foi realizada pela técnica do substrato definido (cromogênico-fluorogênico) com meio Colilert® (Quanty-tray®, Idexx Laboratories Inc, US), expressa como organismos/100ml (APHA, 1998) (Figura 11).

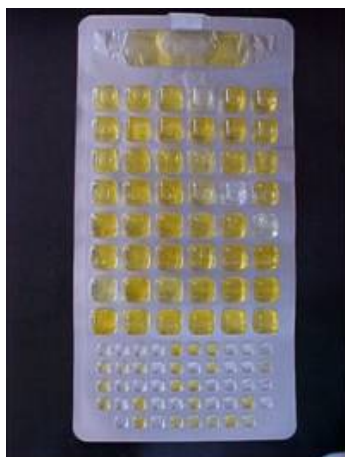


Figura 11 – Quantificação de coliformes totais e *E. coli* com meio Colilert®.

4.4.5. Protozoários *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.*

A pesquisa de protozoários na água foi realizada através da técnica da floculação com carbonato de cálcio segundo Vesey et al. (1993) e a pesquisa nos efluentes foi realizada através da adaptação de Vieira et al. (1999) para amostras de esgotos, ambas descritas anteriormente. A enumeração dos (oo)cistos também foi realizada através do kit de diagnóstico MERIFLUOR®⁹ pela técnica de imunofluorescência direta.

4.4.6. Determinação da turbidez

A turbidez é a interferência à passagem da luz através da água, causada por partículas insolúveis de solo, matéria orgânica, microorganismos e outros materiais, que desviam ou absorvem os raios luminosos que penetram na água. As partículas de turbidez, além de diminuir a claridade e reduzir a transmissão da luz na água, podem provocar o sabor e o odor da mesma, uma vez que as partículas de turbidez transportam matéria orgânica adsorvida.

A turbidez em si não traria inconvenientes sanitários, não fosse a natureza química de certas substâncias em suspensão que poderão estar presentes, bem como a ocorrência de organismos patogênicos associados a essas substâncias. Frequentemente a matéria em suspensão atua como escudo protetor para os microorganismos patogênicos, defendendo-os

⁹ Meridian Diagnostics, Inc.

da ação de agentes desinfetantes utilizados nas estações de tratamento, contribuindo assim para veiculação de doenças (VIANA, 2002).

A determinação da turbidez foi realizada através de um turbidímetro portátil (HACH® modelo 2100P, Estado Unidos da América), conforme recomendado no APHA (1998).

4.4.7. Medição da vazão dos cursos d'água

Foram realizadas medições de vazão nos sete córregos trabalhados e também no Ribeirão São Bartolomeu. Foram utilizados dois métodos de acordo com a seção e volume dos cursos d'água, método do vertedor e molinete.

Os vertedores podem ser definidos como simples paredes, diques ou aberturas sobre as quais um líquido escoar. Há muito tempo os vertedores têm sido utilizados, intensiva e satisfatoriamente na medição de vazão de pequenos cursos de água. Assumindo as mais variadas formas e tamanhos, os vertedores apresentam comportamentos diversos. O vertedor utilizado neste trabalho foi um vertedor triangular, com formato isósceles e ângulo de 90°, o qual possibilita maior precisão na medida de cargas correspondentes a vazões reduzidas. Na prática, após a instalação do vertedor, mede-se a altura da lâmina d'água e posteriormente através de uma equação (Equação 3) obtém-se a vazão.

Para esse tipo de vertedor adota-se a fórmula de Thompson (AZEVEDO NETTO et al., 1998).

$$Q = 1,4 \cdot H^{5/2} \quad (3)$$

Onde:

Q = vazão em m³/s ou L/s

H = carga em metros

1,4 = coeficiente que pode variar de 1,40 a 1,46

Os molinetes são aparelhos constituídos de palhetas, hélices ou conchas móveis, as quais impulsionadas pelo líquido, dão um número de rotações proporcional à velocidade da corrente. A cada volta ou a cada determinado número de voltas estabelece-se um contato elétrico e o aparelho emite um som. Este dispositivo permite conhecer o número de revoluções do eixo durante um determinado intervalo de tempo, ou seja, a velocidade de

rotação. A velocidade da corrente é dada em função do número de voltas por segundo e de coeficientes particulares para cada aparelho (AZEVEDO NETTO et al., 1998).

Para medição com método do molinete, inicialmente foi calculada a área dos cursos d'água. O número de verticais necessárias foi obtido através da Equação 4, e está ilustrado nas Figura 12 e 14.

$$N = 4 \cdot L^{0,3} + 1 \quad (4)$$

Onde:

N = número de verticais

L = largura do curso d'água

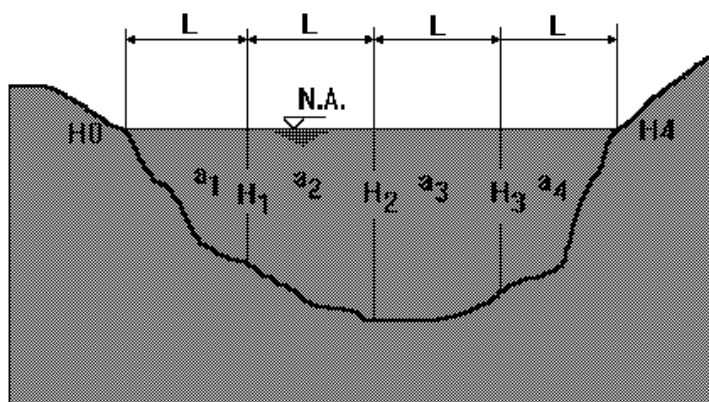


Figura 12 – D terminação área para cursos d'água de seção desuniforme.

A seção transversal foi dividida em sub-áreas de mesma largura, posteriormente calculou-se a área de cada subseção ($a_1, a_2, a_3, a_n...$) baseando-se na forma geométrica mais próxima. O mesmo procedimento foi realizado para todas as seções transversais. A área total foi encontrada através do somatório da área de cada subseção (Equação 5).

$$A = \sum_n^1 a \quad (5)$$

Onde:

A = área total

a = sub-áreas

n = número de sub-áreas

Para determinação da vazão foi usado um molinete fluviométrico, com uma hélice, eixo vertical, e determinação eletrônica do número de rotações (n) de fabricação alemã (Marca A-OTT®). A partir de posse da equação de calibração ou curva característica do molinete obteve-se a velocidade média da corrente líquida através da seguinte fórmula (Equação 6):

$$V = a + b \cdot n \quad (6)$$

Onde:

v = velocidade da corrente líquida

a e b = coeficientes de ajustes obtidos por meio de aferição

n = número de rotações/segundo

Considerando a variação da velocidade ao longo da profundidade, em cada seção transversal a velocidade foi medida em três diferentes profundidades (0,2, 0,6 e 0,8) tomando como partida a superfície. A figura abaixo ilustra o perfil de variação da velocidade ao longo da profundidade (Figura 13).

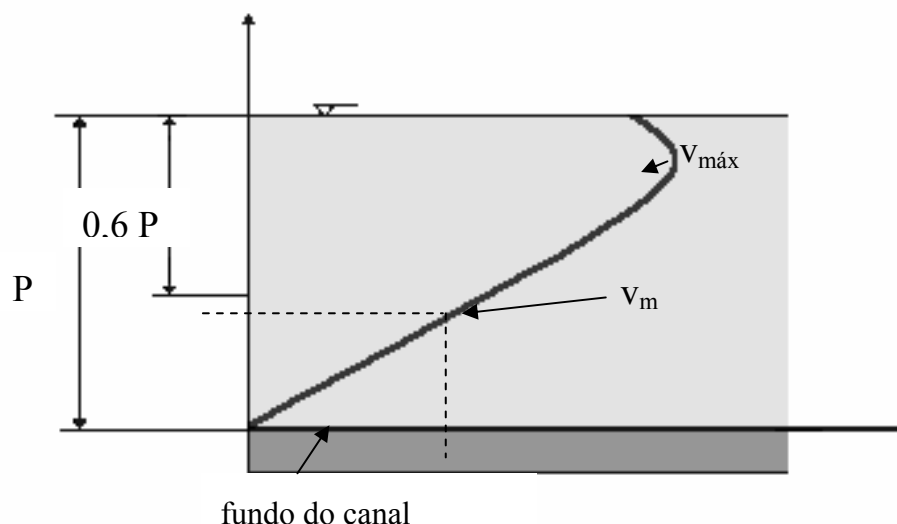


Figura 13 - Perfil de variação da velocidade ao longo da profundidade.

A velocidade média foi então obtida através da seguinte fórmula (Equação 7):

$$V_m = \frac{V_{0,2} + 2 \cdot V_{0,6} + V_{0,8}}{4} \quad (7)$$

Onde:

V_m = velocidade média

$V_{0,2}$ = velocidade na profundidade 0,2

$V_{0,6}$ = velocidade na profundidade 0,6

$V_{0,8}$ = velocidade na profundidade 0,8

Com os dados da área e velocidade média pôde-se então obter a vazão nos curso d'água através da formula abaixo (Equação 8):

$$Q = A \cdot v_m \quad (8)$$

Onde:

Q = vazão em m^3/s

A = área total da seção transversal

V_m = velocidade média

No período de março a vazão foi obtida em todos os cursos d'água através do método do molinete. Já no período de junho, devido à redução do volume de água, o molinete foi usado para 6 córregos e para o RSB e no Córrego dos Machados a medição da vazão foi realizada através de um vertedor (Figura 14).



Figura 14 - Medição da vazão na bacia hidrográfica do RSB. (A) Largura da seção horizontal. (B) Determinação da profundidade em diferentes seções transversais. (C) Método do Molinete. (D) Método do vertedor.

Quadro 10 – Resumo da metodologia aplicada segundo o estudo realizado, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG, 2003-2007

ESTUDO	PERÍODO	ALVO DA PESQUISA	AMOSTRAS COLETADAS	LOCAL DAS COLETAS	PARÂMETROS PESQUISADOS	FREQUÊNCIA
ESTUDO 1	Janeiro de 2003 a janeiro de 2004	População animal	Fezes dos animais	Toda extensão da bacia	<i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.	Trimestralmente
			Esgoto	ETE-Romão dos Reis e duas suinoculturas		
			Água	Sete sub-bacias e RSB		
ESTUDO 2	Julho de 2004 a junho de 2005	População humana	Fezes de crianças com menos de 10 anos	Bairro Romão dos Reis e Vila Dona Elisa de Paula	Enteroparasitas	Trimestralmente
			Esgoto	ETE-Romão dos Reis	<i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.	
			Água Bruta	RSB		
ESTUDO 3	Janeiro a junho de 2007	Água	Esgoto	ETE-Romão dos Reis e uma suinocultura	<i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Streptococcus</i> e <i>Enterococcus</i>	Quinzenalmente
			Água	Sete sub-bacias e RSB	Microbiológicos: <i>Streptococcus</i> e <i>Enterococcus</i> , Esporos anaeróbios e aeróbios, <i>Bacillus</i> spp., <i>Clostridium perfringens</i> , <i>E. coli</i> , coliforme totais, <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. Físicos: Turbidez e vazão	

4.4.8. Espacialização dos dados

O geoprocessamento apresenta-se como ferramenta complementar de avaliação de riscos à saúde, possibilitando a ampliação e o incremento do monitoramento da qualidade da água e do estudo epidemiológico na bacia hidrográfica do RSB. Todas as propriedades e residências estudadas, bem como os pontos de coleta de água e esgoto foram georreferenciados através de GPS (*Global Position System*). Nas propriedades rurais, o georreferenciamento foi realizado com a finalidade de localizar o estábulo. As informações obtidas foram introduzidas na base de dados espaciais e as análises foram realizadas através do programa ArcView 3.3. Foram, então, elaborados mapas para caracterizar a distribuição espacial das propriedades positivas, contaminação nos cursos d'água, o perfil populacional (número de animais segundo a espécie), a localização de fontes de poluição difusa e focal e a definição de fatores de risco associados à contaminação dos curso d'água em cada sub-bacia (número de propriedades, número de animais, escoamento, distância do curral ao curso d'água e uso do solo).

Ainda no ArcView, a divisão das sub-bacias foi traçada a partir de curvas de nível da região estudada permitindo a visualização da localidade de cada propriedade e a sub-bacia correspondente. A partir do georreferenciamento dos currais foi realizada uma análise que quantificou o fluxo de acumulação de água nas propriedades. A variável denominada pelo programa ArcView como "Flow accumulation" foi obtida a partir de dados do relevo e da inclinação do terreno, indicando a quantidade de água que é drenada para o local (curral/estábulo); dessa forma, os topos de morro apresentam valores próximos de zero e à medida que se aproxima do rio os valores aumentam, sendo os valores máximos encontrados nos cursos d'água. Esses dados permitiram estimar a quantidade de água que passa por cada curral e assim o potencial de contaminação do manancial superficial por cada propriedade. Visando minimizar o erro do GPS, optou-se por trabalhar com oito células (25m^2 cada) em torno do ponto georreferenciado (curral), assim foi calculada a média de escoamento e o valor máximo para cada propriedade. As duas suinoculturas (propriedades número 35 e 42) não foram incluídas nessas análises uma vez que os dejetos dessas são canalizados até o curso d'água, não sofrendo interferência do escoamento e inclinação do terreno.

Usando ainda outra ferramenta do ArcView foi possível quantificar a distância, em metros, do curral até o curso d'água. A partir de uma imagem de satélite previamente obtida foi possível caracterizar o uso do solo em toda a bacia hidrográfica no RSB, assim, as áreas identificadas foram: pastagens degradadas/solo exposto, pastagem, mata/capoeira, café e área urbana.

4.4.9. Análise dos dados

Os resultados da pesquisa de (oo)cistos em amostras de água foram, inicialmente, sistematizados utilizando técnicas da estatística descritiva (cálculo de medidas de tendência: média, desvio padrão, coeficiente de variação, média geométrica), segundo o trimestre de coleta e a sub-bacia.

Para as comparações envolvendo médias de dados, inicialmente os mesmos foram testados para normalidade (Teste de Liliefors) e homocedasticidade (Teste de Bartlett). Como as distribuições dos dados não obedeceram a ambos os critérios, optamos pelo Teste de Wilcoxon quando as comparações envolviam duas médias (por exemplo, entre protozoários por trimestre) e Teste Kruskal Wallis quando envolviam mais de duas médias (por exemplo, entre trimestres).

Estudos de correlações entre as ocorrências de (oo)cistos e diferentes variáveis (pluviosidade média referente à semana de coleta da amostra, número de propriedades, número de animais, escoamento, distância do curral ao curso d'água e uso do solo e parâmetros microbiológicos) foram realizados pelo cálculo do Coeficiente de Spearman (r_s).

Os resultados das análises de fezes na população animal foram analisados a partir do cálculo das proporções e prevalências de propriedades positivas para protozoários, segundo categoria animal, trimestre de coleta e sub-bacia de localização da propriedade e prevalências de propriedades positivas para protozoários segundo manancial utilizado para dessedentação animal e destino de dejetos.

Os dados relativos à proporção e prevalência de propriedades positivas foram comparados utilizando o teste Qui-quadrado (χ^2) para aderência (proporções de propriedades positivas para *Giardia* e *Cryptosporidium* segundo a categoria animal; prevalência total; prevalência de propriedades positivas segundo a sub-bacia) e para

homogeneidade (prevalência de propriedades positivas para *Giardia* e *Cryptosporidium* segundo a categoria animal, trimestre de coleta e manancial utilizado para dessedentação).

Com relação ao estudo envolvendo a população humana, inicialmente foi feita a caracterização das comunidades investigadas a partir das distribuições de frequência das variáveis sócio-demográficas e de saneamento. Posteriormente, foram realizadas análises de associação entre o resultado coprológico positivo e as variáveis sócio-demográficas e de saneamento estudadas a partir da construção de tabelas de contingência, cálculo do Qui-quadrado (χ^2) e da razão de chances, com respectivo intervalo de confiança de 95%.

Os resultados referentes à qualidade microbiológica da água e do esgoto também foram utilizados para a análise descritiva dos dados e para a realização de estudos de correlação envolvendo a ocorrência de protozoários nas amostras de água, para tanto, foram utilizados os resultados de turbidez, coliformes, esporos aeróbios e anaeróbios, pluviosidade e vazão.

As análises estatísticas foram conduzidas com a utilização dos programas EpiInfo versão 6.04b (WHO, 1997), BioEstat versão 2.0 (AYRES et al., 2000) e SAEG versão 7.0 (SAEG, 2007). As interpretações dos dados espaciais foram realizadas considerando o nível de significância de 10% e para todas as demais interpretações utilizou-se 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo 1: Impacto causado por populações animais na qualidade parasitológica do Ribeirão São Bartolomeu

A Tabela 1 apresenta a estatística descritiva dos dados de protozoários em amostras de água segundo o trimestre de coleta. Ambos os protozoários apareceram, na bacia hidrográfica do RSB, nos quatro trimestres pesquisados durante o período de 2003 – 2004, sendo que apresentam dados com elevada variabilidade, demonstrada pelo coeficiente de variação. Considerando todos os resultados encontrados, as médias aritméticas para *Giardia* e *Cryptosporidium* foram, respectivamente, de 20,2 e 15,3 (oo)cistos/L, sendo que a diferença entre ambos protozoários não foi estatisticamente significativa ($t = 0,15$; $p = 0,44$).

Os dados de literatura também relatam elevada variabilidade na ocorrência de (oo)cistos de protozoários em mananciais superficiais. Destacam-se o trabalho desenvolvido por Isaac- Renton et al. (1996) os quais relatam médias aritméticas variando entre 0,1 – 2.125 cistos de *Giardia*/100 L durante um ano de monitoramento em três mananciais parcialmente protegidos e o trabalho realizado por Le Chevallier e Norton (1995), onde obtiveram médias geométricas variando entre 4 – 6.600 cistos/100L para *Giardia* e 6,5 – 6.500 oocistos/100L para *Cryptosporidium*.

O Gráfico 1 apresenta a distribuição das médias geométricas dos cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* e a pluviosidade média do trimestre de coleta, considerando todos os resultados dos oito pontos de coleta, entre janeiro de 2003 e janeiro de 2004.

Os dados encontrados permitem visualizar que a ocorrência de (oo)cistos de protozoários é maior no período chuvoso (primeiro e quarto trimestres), o que é coerente com estudos anteriormente descritos (ATHERHOLT et al., 1998; BASTOS et al., 2004; DAVIES et al., 2004; HELLER, et al., 2006). Nesse período, o aumento da turbidez da água associada à maior carga de sedimento coletado incrementa o número de cistos e oocistos encontrados, o que vem confirmar uma queda na qualidade parasitológica da água bruta durante o período chuvoso. Entretanto, apesar de visualmente a distribuição dos dados sugerir um comportamento sazonal da ocorrência de (oo)cistos, isso não foi confirmado pela análise estatística, a qual não demonstrou diferenças significativas entre os trimestres, seja para *Giardia* ($t = 7,12$; $p > 0,05$) ou *Cryptosporidium* ($t = 4,19$; $p > 0,05$), conforme Tabela 1.

Uma vez que o Gráfico 1 demonstra nitidamente dois momentos, um período de seca (mai/jun/jul e ago/set/out) e um período de chuva (jan/fev/mar e nov/dez/jan), optamos por analisar os dados considerando esses dois períodos. Assim, a média aritmética de cistos de *Giardia* na seca (MA = 1,63 cistos/L) foi estatisticamente menor ($p = 0,0014$) do que a identificada no período de chuva (MA = 38,7 cistos/L). Esse achado também foi semelhante para *Cryptosporidium*, onde no período de seca houve menor ocorrência de oocistos (MA = 5,6 oocistos/L) do que no período de chuva (MA = 25,0 oocistos/L) sendo a diferença estatisticamente significativa ($p = 0,013$). Esses resultados reforçam a influência da pluviosidade na ocorrência de (oo)cistos em mananciais superficiais de água.

Comportamento semelhante foi observado em outros trabalhos os quais ressaltam que os períodos de estiagem favorecem a estagnação da água nos lagos e reservatórios e o florescimento de algas. Em contrapartida, os períodos chuvosos acarretam a ressuspensão do material sedimentado no fundo de lagos e rios, favorecendo a elevação das concentrações de partículas e, conseqüentemente, os cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* a elas associadas (ATHERHOLT et al., 1998).

No trabalho desenvolvido por Atherholt et al. (1998), foram observadas maiores médias geométricas de *Giardia* e *Cryptosporidium* nos períodos de elevada precipitação, sendo encontradas concentrações de *Giardia* e *Cryptosporidium* variando entre 2,3 a 5,1 cistos/5L e 0,7 a 1,0 oocistos/5L nos períodos de chuva e 1,5 a 1,7 cistos/5L e 0,2 a 0,3

oocistos/5L nos períodos de seca, respectivamente. Nesse mesmo trabalho foi observado que os períodos de chuva também se caracterizaram por apresentar valores de turbidez mais elevados (12 a 18 uT) que o período de seca (6 a 9 uT).

Tabela 1 – Estatística descritiva dos resultados da pesquisa de (oo)cistos em amostras de água segundo o trimestre de coleta, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

TRIMESTRE	<i>Giardia</i> (cistos/L) ⁽¹⁾				<i>Cryptosporidium</i> (oocistos/L) ⁽¹⁾			
	MA ⁽²⁾	MG ⁽³⁾	DP ⁽⁴⁾	CV ⁽⁵⁾	MA ⁽²⁾	MG ⁽³⁾	DP ⁽⁴⁾	CV ⁽⁵⁾
Primeiro (jan/fev/mar) ⁽⁶⁾⁽⁷⁾	38,1 ^{a^*}	47,0	49,2	129,2	33,0 ^{a^*}	33,3	47,8	144,8
Segundo (mai/jun/jul) ⁽⁶⁾⁽⁷⁾	1,3 ^{a^†}	4,6	2,6	203,9	7,8 ^{a^†}	19,6	19,3	248,4
Terceiro (ago/set/out) ⁽⁶⁾⁽⁷⁾	2,0 ^{a^†}	16,0	5,7	282,8	3,4 ^{a^†}	27,0	9,5	282,8
Quarto (nov/dez/jan) ⁽⁶⁾⁽⁷⁾	39,4 ^{a^†}	36,4	74,0	187,9	17,0 ^{a^†}	32,0	20,5	120,7
TOTAL ⁽⁶⁾⁽⁷⁾	20,2 [*]	27,4	46,3	229,7	15,3 [*]	29,5	29,1	190,6

NOTAS: (1) Letras iguais na mesma coluna indicam que não existem diferenças significativas entre as médias ao nível de significância de 5%. (2) Média aritmética. (3) Média geométrica. (4) Desvio padrão. (5) Coeficiente de variação (%). (6) Símbolos iguais na mesma linha indicam que não existem diferenças significativas entre as médias ao nível de significância de 5%. (7) n = 8 para cada trimestre.

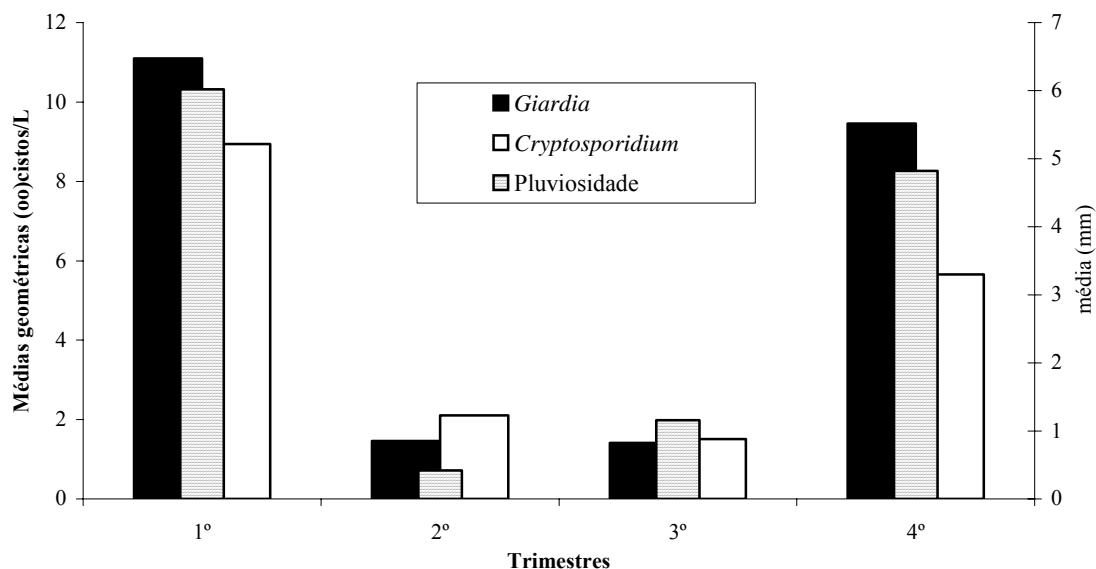


Gráfico 1 – Médias geométricas de (oo)cistos de protozoários e pluviosidade média da semana de coleta, segundo o trimestre de coleta, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.

Ainda analisando a Tabela 1, interessante notar que, no período de chuva, as médias de cistos de *Giardia* (MA = 38,1 e 39,4 cistos/L) são maiores que as de oocistos de *Cryptosporidium* (33,0 e 17,0 oocistos/L), no primeiro e quarto trimestre respectivamente. Já no período da seca, segundo e terceiro trimestres, observa-se o contrário, ou seja, a maior ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* no manancial (MA = 7,8 e 3,4 oocistos/L) do que para *Giardia* (1,3 e 2,0 cistos/L). Entretanto, as análises estatísticas não revelaram diferenças significativas entre os trimestre (Tabela 2). Também quando agregamos os dados considerando apenas dois períodos, seca (segundo e terceiro trimestres) e chuva (primeiro e quarto trimestres), não identificamos diferenças estatísticas entre os protozoários seja para o primeiro ($p = 0,43$) ou para o segundo ($p = 0,31$), sugerindo, assim, um comportamento uniforme entre ambos os protozoários nos períodos estudados.

Tabela 2 – Valores de p, segundo análise pelo teste de Wilcoxon, para comparação entre as médias de (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium* segundo o trimestre de coleta, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

TRIMESTRE	MÉDIA ARITMÉTICA		VALOR DE p
	<i>Giardia</i> (cistos/L)	<i>Cryptosporidium</i> (oocistos/L)	
Primeiro	38,1	33,0	0,353
Segundo	1,3	7,8	0,418
Terceiro	2,0	3,4	0,464
Quarto	39,4	17,0	0,413

De forma a melhor demonstrar a relação entre as ocorrências de (oo)cistos e a pluviosidade, foi realizada análise de correlação entre os valores de médias aritméticas para (oo)cistos e a pluviosidade média do trimestre de coleta, tendo essa sido significativa (Coeficiente de Spearman_{rs} = 0,7807; $p = 0,022$). A equação que revelou melhor ajuste foi a distribuição exponencial ($R^2 = 81,08\%$; $p = 0,002$), conforme Gráfico 2.

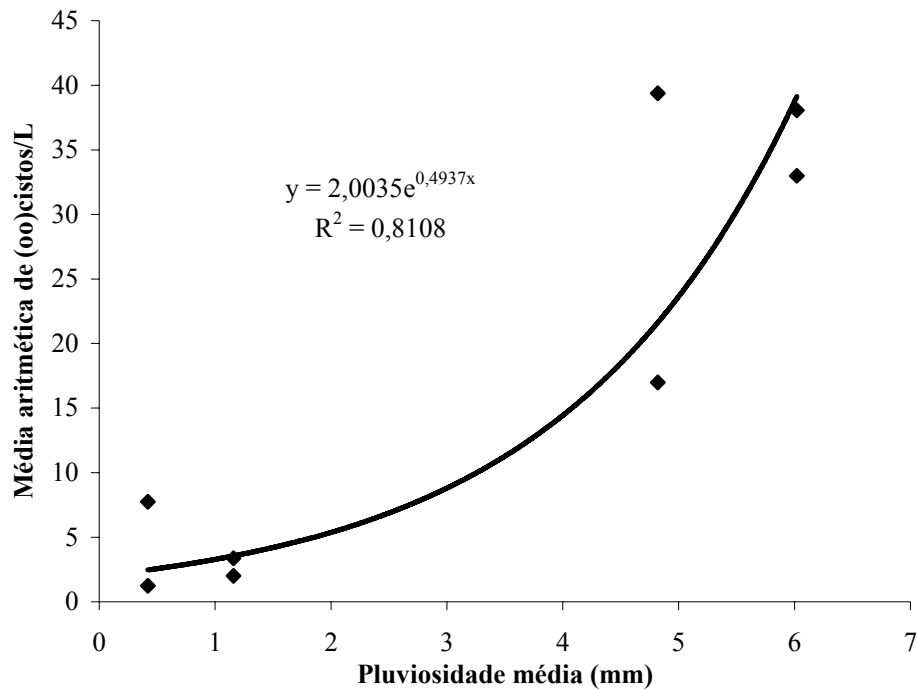


Gráfico 2 – Análise de regressão entre médias aritméticas de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* e pluviosidade média semanal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.

Os resultados da pesquisa de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* nas amostras ambientais, segundo a sub-bacia, estão apresentados na Tabela 3. As sete sub-bacias pesquisadas, em alguma época do ano, apresentaram contaminação com (oo)cistos de protozoários o que confirma a contribuição dessas com a contaminação do RSB, que recebe todo o aporte hídrico desses cursos d'água. O RSB apresentou, em média, a maior contaminação para *Giardia* (MA = 65,8 cistos/L), sendo que em todas as coletas foram identificados cistos desse protozoário. Já para *Cryptosporidium*, a sub-bacia 'Córrego do Engenho', embora não tenha revelado a maior média (MA = 28,5 oocistos/L) foi a que apresentou o maior número de coletas com resultado positivo para esse protozoário.

Análises de diferença de médias entre as sub-bacias não apontaram maior ocorrência de protozoários para alguma sub-bacia específica, seja para *Giardia* ($t = 8,59$; $p > 0,05$) ou para *Cryptosporidium* ($t = 5,37$; $p > 0,05$). Entretanto, algumas características das áreas, que serão destacadas, juntamente com a distribuição espacial dos dados, podem auxiliar no entendimento da ocorrência diferenciada, mesmo que não estatisticamente significativa, de (oo)cistos de protozoários entre as sub-bacias pesquisadas.

Tabela 3 – Estatística descritiva dos resultados da pesquisa de (oo)cistos em amostras de água, segundo a sub-bacia, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

SUB-BACIA	<i>Giardia</i> (cistos/L)				<i>Cryptosporidium</i> (oocistos/L)			
	MA ⁽¹⁾	MG ⁽²⁾	DP ⁽³⁾	CV ⁽⁴⁾	MA ⁽¹⁾	MG ⁽²⁾	DP ⁽³⁾	CV ⁽⁴⁾
Ribeirão São Bartolomeu	65,8	22,4	103,2	157,0	22,8	44,5	27,4	120,4
Córrego São Lucas	0,0	0,0	0,0	0,0	7,5	13,3	10,4	138,3
Córrego dos Machados	11,9	23,7	13,8	115,8	33,8	135,0	67,5	200,0
Córrego Santa Catarina	1,8	7,0	3,5	200,0	1,8	7,0	3,5	200,0
Córrego Paraíso	16,3	32,0	19,3	118,7	0,0	0,0	0,0	0,0
Córrego Palmital	0,0	0,0	0,0	0,0	3,8	15,0	7,5	200,0
Córrego Antuérpia	41,8	61,5	66,7	159,8	24,3	43,5	33,1	136,3
Córrego Engenho	24,0	35,8	38,1	158,7	28,5	36,2	22,6	79,2

NOTAS: (1) Média aritmética. (2) Média geométrica. (3) Desvio padrão. (4) Coeficiente de variação (%).

O levantamento das propriedades existentes na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu revelou a existência de 42 propriedades com explorações animais em 2003, sendo que 41 (97,6%) proprietários concordaram em participar da pesquisa, permitindo a coleta de material fecal dos animais ou amostras de efluentes. Desse total, 38 (92,7%) se caracterizavam por produção de bovinos e possuíam, ao todo, cerca de 300 animais. As outras três propriedades (7,3%) se constituíam de uma caprinocultura e duas suinoculturas. A caprinocultura possuía cerca de 40 animais e as suinoculturas eram constituídas por 25 e 62 matrizes, respectivamente, totalizando, assim, 250 e 620 animais em cada uma das granjas de suínos. A espacialização dos dados permitiu uma melhor visualização da distribuição das espécies animais em toda a área da bacia hidrográfica (Figura 15).

Os resultados apresentados a seguir se referem às 42 propriedades identificadas na bacia hidrográfica do RSB, sendo que os dados das análises das características das explorações animais incluem todas as propriedades. Já os dados referentes aos resultados da pesquisa de protozoários incluem 38 propriedades (exploração de bovinos) e três (caprinocultura e suinoculturas), cujos responsáveis aceitaram participar da pesquisa.

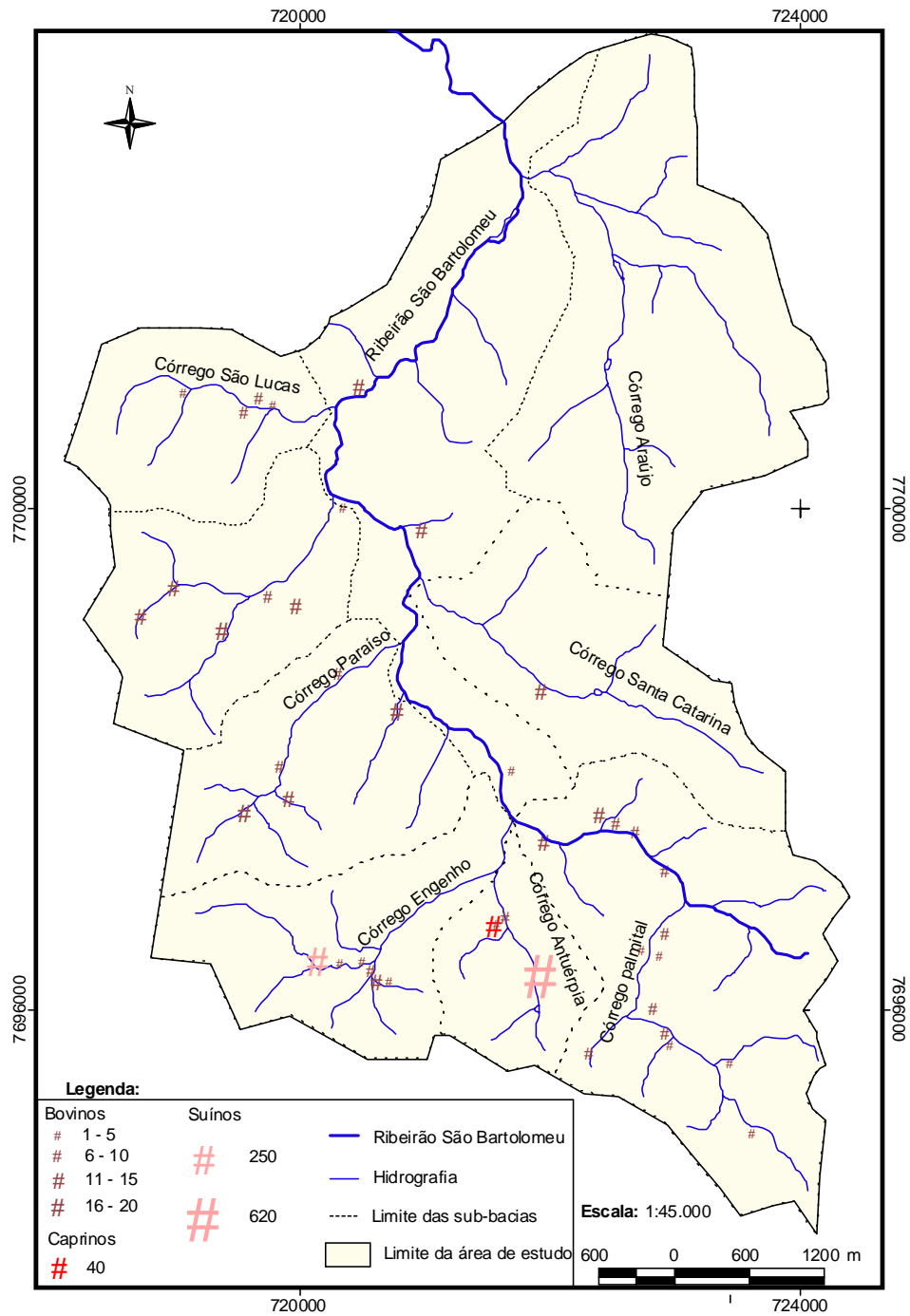


Figura 15 – Densidade de animais segundo a espécie explorada na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa–MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.

Constata-se, uma maior densidade de suínos na bacia hidrográfica do RSB, embora a maior proporção de propriedades localizadas nessa área apresente animais da espécie bovina. Os dados obtidos após aplicação do questionário revelaram que, com relação à fonte de água utilizada pelos animais, 47,6% das propriedades utilizam mina/nascente; 21,4% água de rio/ribeirão; 19,0% água proveniente de poço artesiano; 7,1% água de poço/cisterna e 4,8% água de represa/lago/lagoa (Tabela 4).

Tabela 4 – Prevalência de propriedades positivas para (oo)cistos segundo o tipo de manancial e fonte de água para dessedentação animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

MANANCIAL/FONTE DE ÁGUA	PROPRIEDADES ⁽¹⁾		
	TOTAL (%)	POSITIVAS <i>Giardia</i> (%)	POSITIVAS <i>Cryptosporidium</i> (%)
Subterrâneo			
Mina/nascente	47,6	80,0	55,0
Poço artesiano	19,1	50,0	62,5
Poço/cisterna	7,1	66,7	33,3
TOTAL	73,8	71,0^{a(2)}	54,8^{a(3)}
Superficial			
Rio/ribeirão	21,4	62,5	75,0
Represa	4,8	50,0	0,0
TOTAL	26,2	60,0^a	60,0^a

NOTAS: (1) Letras iguais na mesma coluna indicam que não existem diferenças significativas entre as médias ao nível de significância de 5%. (2) $\chi^2 = 0,420$; GL = 1; P = 0,517. (3) $\chi^2 = 0,082$; GL = 1; P = 0,775..

Agregando os dados segundo o tipo de manancial, 73,8% das propriedades oferecem, aos animais, água proveniente de manancial subterrâneo e 26,2% oferecem água de manancial superficial. No entanto, há de se destacar que esses dados se referem à água oferecida aos animais no estábulo e que estes animais enquanto estão pastando têm acesso a córregos e ribeirões que porventura passem pela propriedade, conforme pôde ser constatado durante o estudo e documentado através de imagens fotográficas (Figura 16). Dessa maneira, os animais podem se contaminar ao beberem água dos mananciais superficiais e conseqüentemente podem contaminar os cursos d'água ao eliminarem fezes contendo (oo)cistos de protozoários nas proximidades dos mesmos. Há ainda que se destacar que os mananciais classificados como 'mina/nascente' não apresentavam captação protegida, sendo que a água escorria pela superfície do terreno (por distâncias variadas dependendo da

propriedade) antes de ser canalizada. Foi constatado, ainda, que em 100% das propriedades não existe tratamento da água destinada à dessedentação dos animais.

Considerando as prevalências de propriedades positivas para *Giardia* e *Cryptosporidium*, não observamos diferença entre as propriedades que utilizam manancial superficial ou subterrâneo (Tabela 4). Conforme a literatura, águas subterrâneas, pelo processo de infiltração pelas camadas do solo, apresentam menor densidade de (oo)cistos de protozoários que os mananciais superficiais (HANCOCK et al., 1997; USEPA, 1998; GAMBA et al., 2000). Os mananciais superficiais podem, assim, funcionar como prováveis fontes de infecção para os animais, sendo responsáveis, inclusive, pela introdução desses bio-agentes patogênicos nas propriedades e rebanhos. Entretanto, no presente estudo, conforme o exposto no parágrafo anterior, não podemos fazer inferência sobre a maior ou menor exposição dos animais à infecção por esses protozoários em função do tipo de manancial de água consumido, uma vez que mesmo supridos por fontes de água subterrâneas, os animais acabam por ter acesso a fontes superficiais nas propriedades.

Com relação ao destino dado às fezes, 95% das propriedades faziam uso direto como adubo, sem nenhum tipo de tratamento; 2,5% realizavam compostagem e 2,5% faziam uso de esterqueira.

A pesquisa de protozoários em fezes animais (bovinos) revelou que durante todo o período (quatro trimestres) foram identificadas propriedades positivas, ou seja, onde pelo menos um animal estava eliminando cistos e, ou, oocistos (Gráfico 3 e Tabela 5). O menor percentual de propriedades positivas observado no quarto trimestre pode ter ocorrido devido à prática de reposição, relativamente freqüente, adotada pelos proprietários, sendo comum a troca ou venda de bovinos. Nesse processo, podem ser adquiridos animais não infectados, que acabam por se infectar na propriedade, ou descartados os animais positivos. De fato, nesse trimestre, o número total de animais existentes nas propriedades pesquisadas foi menor do que o do restante do período. Considerando a prevalência de propriedades positivas segundo o trimestre de coleta (Tabela 5), não foi identificada diferença estatística entre as prevalências seja para *Giardia* ($\chi^2 = 3,39$; GL = 6; $p = 0,759$) ou para *Cryptosporidium* ($\chi^2 = 3,620$; GL = 6; $p = 0,728$), sugerindo que não existe sazonalidade. Resultado semelhante foi observado por Cox et al. (2005), que em pesquisa de *Giardia* e

Cryptosporidium na Austrália, identificaram ocorrência de protozoários nas fezes de animais domésticos ao longo de todo o ano de estudo sem sazonalidade.

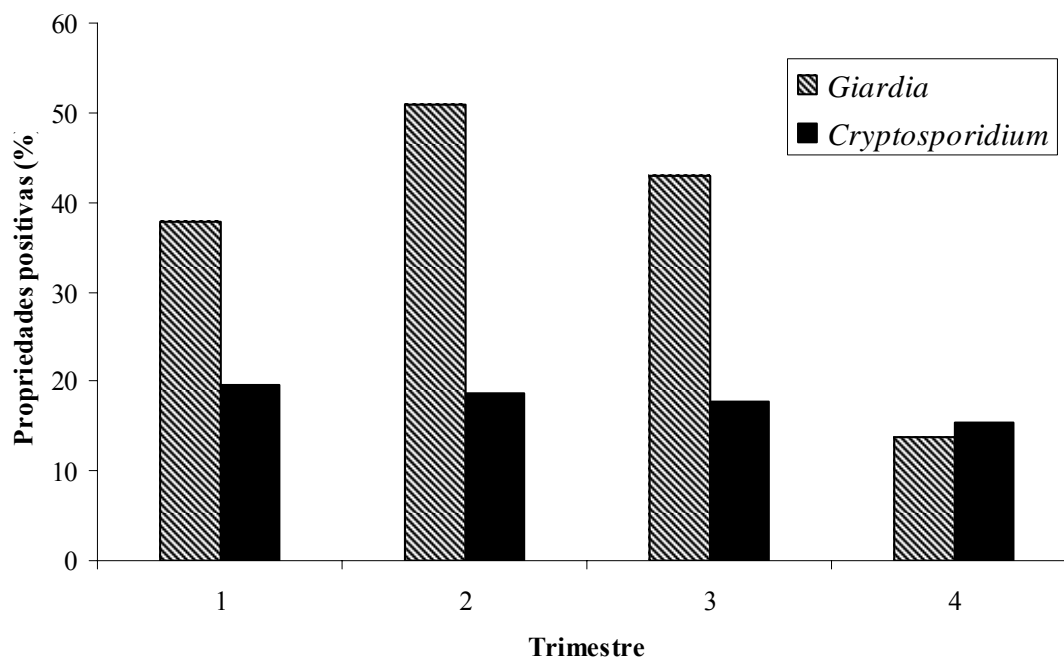


Gráfico 3 – Prevalência de propriedades positivas para (oo)cistos de protozoários, segundo o trimestre de coleta, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004.

Tabela 5 - Prevalência de propriedade positivas para (oo)cistos de protozoários segundo a categoria animal (bovinos), bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

CATEGORIA ANIMAL/PROTOZOÁRIO	TRIMESTRE			
	1º (%)	2º (%)	3º (%)	4º (%)
Adultos				
<i>Cryptosporidium</i>	17,6	17,1	17,1	11,8
<i>Giardia</i>	38,2	45,7	37,1	5,9
Jovens				
<i>Cryptosporidium</i>	17,8	18,2	19,0	25,0
<i>Giardia</i>	35,7	59,1	52,4	25,0
Sinal de doença gastro-entérica				
<i>Cryptosporidium</i>	50,0	50,0	-(1)	0,0(2)
<i>Giardia</i>	50,0	50,0	-	25,0

NOTAS: (1) Não foram identificados animais com sinal de doença gastro-entérica. (2) Não foram identificados animais com sinal de doença gastro-entérica positivos para *Cryptosporidium*.

Com relação à eliminação de cistos ou oocistos nas fezes dos animais (bovinos), a prevalência média de propriedades positivas foi de 36,4% para *Giardia* e 18,0% para *Cryptosporidium*, sendo a diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0002$), conforme Tabela 6. A presença permanente de animais eliminando (oo)cistos de protozoários aponta para a importância que explorações animais podem desempenhar como possíveis fontes de contaminação de mananciais de água (Figura 16).

Tabela 6 – Distribuição proporcional e prevalência de propriedade positivas para (oo)cistos de protozoários segundo a categoria animal (bovinos), bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

CATEGORIA ANIMAL	PROPRIEDADES ⁽¹⁾				
	TOTAL ⁽²⁾	PROPORÇÃO (%)		PREVALÊNCIA (%)	
		<i>Giardia</i> ⁽³⁾	<i>Cryptosporidium</i> ⁽⁴⁾	<i>Giardia</i> ⁽⁵⁾	<i>Cryptosporidium</i> ⁽⁶⁾
Adultos ⁽⁷⁾⁽⁸⁾	138	50,6	51,2	31,9 ^{a‡}	15,9 ^{a‡}
Jovens ⁽⁷⁾⁽⁹⁾	91	44,8	41,9	42,9 ^{a‡}	19,8 ^{a‡}
Sinal de doença gastro-entérica ⁽⁷⁾⁽¹⁰⁾	10	4,6	6,9	40,0 ^{a‡}	30,0 ^{a‡}
TOTAL⁽⁷⁾⁽¹¹⁾	239	100,0	100,0	36,4[‡]	18,0[‡]

NOTAS: (1) Letras iguais na mesma coluna indicam que não existem diferenças significativas entre as médias ao nível de significância de 5%. (2) Refere-se às 38 propriedades investigadas ao longo de quatro trimestres. (3) $\chi^2 = 32,75$; GL = 2; $p < 0,01$. (4) $\chi^2 = 14,0$; GL = 2; $p = 0,0009$. (5) $\chi^2 = 2,92$; GL = 2; $p = 0,233$. (6) $\chi^2 = 1,675$; GL = 2; $p = 0,457$. (7) Símbolos iguais na mesma linha indicam que não existem diferenças significativas entre as médias ao nível de significância de 5%. (8) $\chi^2 = 6,682$; GL = 1; $p = 0,0097$. (9) $\chi^2 = 7,018$; GL = 1; $p = 0,0081$. (10) $\chi^2_{\text{ Yates}} = 0,00$; GL = 1; $p = 1,0$. (11) $\chi^2_{\text{ Yates}} = 14,22$; GL = 1; $p = 0,0002$.

Considerando os três segmentos pesquisados (animais adultos, jovens e com sinais de doença gastro-entérica na população bovina), proporcionalmente identificamos maior número de propriedades positivas para a categoria ‘adultos’ para ambos os protozoários (50,6% para *Giardia* e 51,2% para *Cryptosporidium*). Entretanto, os resultados de prevalência é que revelam informações mais interessantes. Na comparação entre os protozoários, para as categorias ‘adultos’ e ‘jovens’ a maior prevalência foi verificada para *Giardia* (adulto 31,9%; $p = 0,0097$ e jovens 42,9%; $p = 0,0081$). Para os animais com sinal de doença gastro-entérica, a prevalência de propriedades positivas foi semelhante para ambos os protozoários ($p = 1,0$). Considerando os protozoários individualmente, apesar de não termos identificado diferença estatística, a categoria ‘jovens’ apresentou maior prevalência que os adultos (*Giardia* 42,9% e *Cryptosporidium* 19,8%), sendo que animais ‘com sinal de doença gastro-entérica’, foi a categoria mais prevalente para *Cryptosporidium* (30,0%), conforme Tabela 6.

Os resultados, aparentemente, demonstram que ambos os protozoários ocorrem com elevadas prevalências e em animais jovens, o que também é relatado por Xiao e Herd (1994) e Olson et al., (1997). É importante ressaltar que, embora as análises de fezes não tenham quantificado a presença de ambos os protozoários, as cargas excretadas por animais são elevadas, conforme dados da literatura. Segundo Crockett e Haas (1997), um único bezerro ou uma ovelha infectados podem excretar mais oocistos por dia que 1.000 indivíduos imunodeprimidos. Xiao e Herd (1996) referem a eliminação de 1.000 cistos/g de fezes (média geométrica) em bovinos sem sinais clínicos. Ainda, Olson et al. (1997) referenciam a eliminação de 1.180 cistos/g e 457 oocistos/g de fezes para *Giardia* e *Cryptosporidium* respectivamente, em bovinos.

A distribuição das propriedades pesquisadas segundo a localização nas sub-bacias revela que em todas as sub-bacias ocorreram propriedades positivas (Tabela 7 e Figuras 17 a 24). Embora não tenha havido diferença entre as prevalências médias de propriedades positivas ao longo do período ($p = 0,385$), destaca-se a área do Córrego Santa Catarina, onde identificamos o menor número de propriedades e de propriedades positivas ao longo do período. Esses achados estão de acordo com os resultados da pesquisa de (oo)cistos na água, que indicou ser essa sub-bacia a de melhor qualidade parasitológica (Tabela 3).



Figura 16 - Documentário fotográfico mostrando o acesso dos animais aos cursos d'água na bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, 2007. (A) Córrego São Lucas. (B) Córrego Paraíso. (C) Córrego Palmital. (D) (E) e (F) Córrego Antuérpia.

Tabela 7 – Propriedades pesquisadas, propriedades positivas e prevalência de propriedades positivas para (oo)cistos de protozoários, segundo a sub-bacia, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

SUB-BACIA ⁽¹⁾	TRIMESTRE												MÉDIA ⁽²⁾	
	1º			2º			3º			4º				
	n ⁽³⁾	positivas ⁽⁴⁾	% ⁽⁵⁾	n ⁽³⁾	positivas ⁽⁴⁾	% ⁽⁵⁾	n ⁽³⁾	positivas ⁽⁴⁾	% ⁽⁵⁾	n ⁽³⁾	positivas ⁽⁴⁾	% ⁽⁵⁾	positivas ⁽⁶⁾	% ⁽⁷⁾⁽⁸⁾
Ribeirão São Bartolomeu	3	2	66,7	3	2	66,7	3	2	66,7	3	1	33,3	1,8	58,3
Córrego São Lucas	4	4	100,0	4	2	50,0	4	2	50,0	4	1	25,0	2,3	75,0 ^a
Córrego dos Machados	6	2	33,0	6	4	66,7	6	3	50,0	6	1	16,6	2,5	41,7 ^a
Córrego Santa Catarina	1	0	0,0	1	0	0,0	1	0	0,0	1	0	0,0	0,0	0,0 ^a
Córrego Paraíso	4	4	100,0	4	4	100,0	4	4	100,0	4	2	50,0	3,5	87,5 ^a
Córrego Palmital	10	4	40,0	12	7	58,3	12	7	58,3	12	4	33,3	5,5	47,8 ^a
Córrego Antuérpia	2	2	100,0	2	1	50,0	2	1	50,0	2	1	50,0	1,3	65,0 ^a
Córrego Engenho	5	4	80,0	5	3	60,0	5	3	60,0	5	1	20,0	2,8	56,0 ^a

NOTA: (1) Não foram incluídos os resultados das suinoculturas e da caprinocultura. (2) Letras iguais na mesma coluna indicam que não existem diferenças significativas entre as médias ao nível de significância de 5%. (3) Número de propriedades pesquisadas. (4) Número de propriedades positivas. (5) Prevalência percentual de propriedades positivas. (6) Média de propriedades positivas no período. (7) Prevalência percentual média de propriedades positivas no período. (8) $\chi^2 = 7,431$; GL = 7; p = 0,385.

Na sub-bacia ‘Córrego Antuérpia’, foi detectada a presença de uma caprinocultura de corte que, anteriormente, se destinava à produção leiteira; essa propriedade no período de janeiro de 2003 (primeira coleta), possuía cerca de 40 animais e como esses não tinham identificação, optou-se por realizar o exame em forma de um pool dos animais de uma mesma baia. Ao longo do trabalho, essa propriedade foi sendo desativada, sendo que o número de animais na segunda coleta era bem menor que na primeira, reduzindo, gradativamente, até a quarta coleta. Os resultados referentes aos animais pesquisados se encontram na Tabela 8.

Tabela 8 - Prevalência de baias positivas para (oo)cistos em amostras de fezes caprinas, segundo o trimestre de coleta, sub bacia ‘Córrego Antuérpia’, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

PROTOZOÁRIO	PREVALÊNCIA (%)				
	1º Trimestre	2º Trimestre	3º Trimestre	4º Trimestre	MÉDIA
<i>Giardia</i>	8,3	0,0	12,5	0,0	7,7
<i>Cryptosporidium</i>	16,7	33,3	50,0	66,7	34,6

Na caprinocultura analisada, em média, encontramos mais baias positivas para *Cryptosporidium* (34,6%) do que para *Giardia* (7,7%), sendo a diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 5,65$; GL = 1; p = 0,017). *Cryptosporidium* também foi o protozoário identificado ao longo de todo o período da pesquisa (Tabela 8).

Adicionalmente, foram coletadas amostras do efluente de uma estação de tratamento de esgoto, operada pelo SAAE-Viçosa (ETE-Romão dos Reis) e do esgoto bruto de duas suinoculturas localizadas nas sub-bacias ‘Antuérpia’ e ‘Córrego Engenho’, respectivamente. Durante o ano de monitoramento, foram coletadas duas amostras de cada um dos pontos acima citados, sendo que os resultados encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9 – Cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em amostras de esgoto bruto de suínos e efluente de estação de tratamento de esgoto sanitário, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

AMOSTRA	COLETA 1 Julho/2003		COLETA 2 Janeiro/2004	
	Cistos de <i>Giardia</i> /L	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> /L	Cistos de <i>Giardia</i> /L	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> /L
Efluente ETE/RR	20.700	0	39.035	0
Suinocultura 1	86	0	450	900
Suinocultura 2	156	0	1.320	660

Os resultados encontrados nas amostras de esgoto (doméstico e suíno) nos permitem inferir que tanto a população humana quanto a população animal contribuem para a contaminação do manancial superficial em estudo. A amostra referente à ETE-Romão dos Reis demonstra grande contribuição da população humana quanto à eliminação de cistos de *Giardia* e, conseqüentemente, contaminação do Ribeirão São Bartolomeu.

Esse resultado é coerente com o encontrado por Vieira et al. (1999) que identificou na bacia do Ribeirão Arrudas no município de Belo Horizonte-MG, concentrações de cistos de *Giardia* na ordem de 10^3 a 10^5 /L. Entretanto, os autores identificaram presença de oocistos de *Cryptosporidium* na ordem de 10^2 a 10^4 /L, diferentemente do verificado nesse período do estudo, onde não foram evidenciados oocistos de *Cryptosporidium* nas amostras referentes ao efluente do esgoto humano durante o ano de 2004.

Estudo desenvolvido também no município de Viçosa, na Unidade Integrada de Tratamento e Utilização de Esgotos Sanitários da Viçoleira, revelou presença média de (oo)cistos de protozoários na ordem de 10^2 /L para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. no efluente do reator UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors) (ANDRADE, 2007).

Com relação às amostras das suinoculturas, a primeira (suinocultura 1), localizada na sub-bacia ‘Córrego Engenho’, apresentava cerca de 25 matrizes e não realizava qualquer tipo de tratamento do esgoto. O efluente da suinocultura era, usualmente, despejado no córrego de mesmo nome da sub-bacia. De forma eventual, o efluente também era destinado à adubação do solo da propriedade e de outras vizinhas, para o plantio de café, sem tratamento prévio.

A segunda suinocultura (suinocultura 2) se localizava na sub-bacia ‘Córrego Antuérpia’, com cerca de 62 matrizes, adicionalmente, o proprietário possuía, na mesma área, uma granja de frangos de corte. Essa propriedade estava, no momento das coletas, iniciando o tratamento dos dejetos suínos com lagoas de estabilização, porém durante o período da pesquisa esse procedimento ainda não estava sendo realizado.

Dados relatados na literatura evidenciam a eliminação de (oo)cistos de protozoários nas fezes de alguns animais domésticos incluindo suínos, caprinos e bovinos. Considerando o protozoário *Cryptosporidium*, os autores destacam a espécie suína pela concentração de oocistos nas fezes (367 oocistos/g de fezes em suínos, 17 oocistos/g de fezes em caprinos e 9 oocistos/g de fezes em bovinos) (HEITMAN, 2002; COX et al., 2005).

Com relação aos cistos de *Giardia* spp., a concentração mais elevada foi detectada em cães domésticos. Entretanto, considerando animais de exploração, os autores encontraram concentrações médias de *Giardia* de: 133 cistos/g de fezes em bezerros, 68 cistos/g de fezes em bovinos adultos, 26 cistos/g de fezes em caprinos e 11 cistos/g de fezes em suínos (HEITMAN, 2002; COX et al., 2005). Esses dados endossam os resultados encontrados no presente trabalho confirmando a eliminação de (oo)cistos de protozoários pelas espécies bovina, caprina e suína, apontando, assim, a contribuição das explorações animais na contaminação da água de mananciais superficiais.

A Tabela 10 apresenta a distribuição proporcional das propriedades investigadas e do número de animais existentes por sub-bacia. Notam-se ocupações diferenciadas, sendo a sub-bacia ‘Córrego Palmital’ a que apresenta o maior número de propriedades (30,0%). Em relação ao número de bovinos e caprinos, as sub-bacias ‘Córrego Palmital’ e ‘Córrego Antuérpia’ foram as que apresentaram as maiores proporções, 28,3% e 17,3%, respectivamente. Entretanto, quando as populações suínas são consideradas, as sub-bacias ‘Córrego Antuérpia’ e ‘Córrego Engenho’ passam a apresentar os maiores valores, 58,4% e 24,2%, respectivamente.

Tabela 10 – Distribuição proporcional das propriedades e dos animais segundo a sub-bacia, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

SUB-BACIA	PROPRIEDADES		ANIMAIS	
	n	%	n	% ⁽¹⁾
Ribeirão São Bartolomeu	3	7,5	14	5,2 (1,2)
Córrego São Lucas	4	10,0	24	8,8 (2,1)
Córrego dos Machados	6	15,0	33	12,1 (2,9)
Córrego Santa Catarina	1	2,5	12	4,4 (1,1)
Córrego Paraíso	5	12,5	39	14,3 (3,4)
Córrego Palmital	12	30,0	77	28,3 (6,7)
Córrego Antuérpia	3	7,5	47 (667) ⁽²⁾	17,3 (58,4)
Córrego Engenho	6	15,0	26 (276) ⁽³⁾	9,6 (24,2)
TOTAL	40	100,0	272 (1.142)	100,0

NOTA: (1) Dados entre parênteses se referem à distribuição proporcional dos animais incluindo a população suína. (2) O total de 667 animais inclui 620 suínos existentes na suinocultura 2. (3) O total de 276 animais inclui 250 suínos existentes na suinocultura 1.

Em relação às sub-bacias investigadas foram realizados estudos com o intuito de identificar correlações entre a ocorrência de protozoários na água dos cursos d'água e o número de propriedades e animais existentes em cada área. Uma vez que a sub-bacia 'Ribeirão São Bartolomeu' recebe o aporte hídrico de todas as outras sub-bacias optamos por excluí-la da análise, por entendermos que essa condição interferiria na interpretação de eventuais resultados significativos de correlação entre o número de propriedades ou animais e a qualidade parasitológica da água. Os resultados, apresentados na Tabela 11, demonstraram que a variável, número de animais (incluindo a população suína), parece ser a que melhor explicaria ($p = 0,07$) a ocorrência de (oo)cistos na água. Considerando um nível de significância de 10%, essa correlação é estatisticamente significativa, indicando que as sub-bacias com maior densidade de animais de exploração são também aquelas com maior ocorrência de *Giardia* e *Cryptosporidium* na água. No entanto, ressaltamos a necessidade de um maior número de observações para a caracterização mais adequada dessas correlações.

As Figuras 17 a 24 permitem visualizar a distribuição espacial, bem como a dinâmica da ocorrência dos protozoários *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em toda a bacia hidrográfica e nas diferentes espécies animais em diferentes momentos.

Tabela 11 – Resultados das análises de correlção pelo Teste de Spearman (rs) entre (oo)cistos e variáveis de ocupação das sub-bacias, hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

VARIÁVEIS	MÉDIAS GEOMÉTRICAS					
	<i>Giardia</i>		<i>Cryptosporidium</i>		Protozoários ⁽¹⁾	
	Coefficiente Spearman (rs)	Valor de p	Coefficiente Spearman (rs)	Valor de p	Coefficiente Spearman (rs)	Valor de p
Número de propriedades	- 0,236	0,61	0,288	0,53	0,162	0,73
Número de animais (bovinos e caprinos)	0,198	0,67	0,286	0,53	0,500	0,25
Número de animais (bovinos, caprinos e suínos)	0,667	0,10	0,464	0,29	0,714	0,07

NOTA: (1) Média geométrica calculada considerando a ocorrência de ambos os protozoários nas amostras de água.

Embora as análises de diferença de médias entre as sub-bacias para presença de protozoários na água não tenham apontado maior ocorrência de protozoários para alguma sub-bacia específica (seja para *Giardia*, $t = 8,59$; $p > 0,05$ ou para *Cryptosporidium*, $t = 5,37$; $p > 0,05$) e os estudos de correlação entre as variáveis de ocupação das sub-bacias e ocorrência de (oo)cistos nas amostras de água não tenham revelado relações significativas, algumas características das áreas merecem ser destacadas e auxiliam o entendimento da dinâmica dos protozoários.

A sub-bacia referente ao Córrego Santa Catarina foi que apresentou menor grau de contaminação (Tabela 3). Nessa sub-bacia existe uma área de preservação ambiental de responsabilidade da Universidade Federal de Viçosa, o que justifica o reduzido percentual de propriedades com exploração animal na área (2,5%) e confirma a necessidade de medidas de preservação das áreas de bacias hidrográficas que são utilizadas como mananciais de abastecimento de forma a garantir a qualidade parasitológica da água.

A sub-bacia referente ao Córrego Antuérpia apresentou altas concentrações de protozoários quando comparada às demais sub-bacias (Tabela 3). É relevante salientar que, embora apenas 7,5% das propriedades estejam localizadas nessa área, existe a presença de uma caprinocultura e uma suinocultura, caracterizando a sub-bacia com a maior densidade de animais (bovinos, suínos e caprinos). Ambas as propriedades citadas não realizam tratamento dos dejetos animais e apresentaram na análise das fezes (para os caprinos) e esgoto bruto (para os suínos) presença de (oo)cistos de protozoários (Tabelas 8 e 9). Esse fato indica as propriedades citadas como potenciais fontes de contaminação da água.

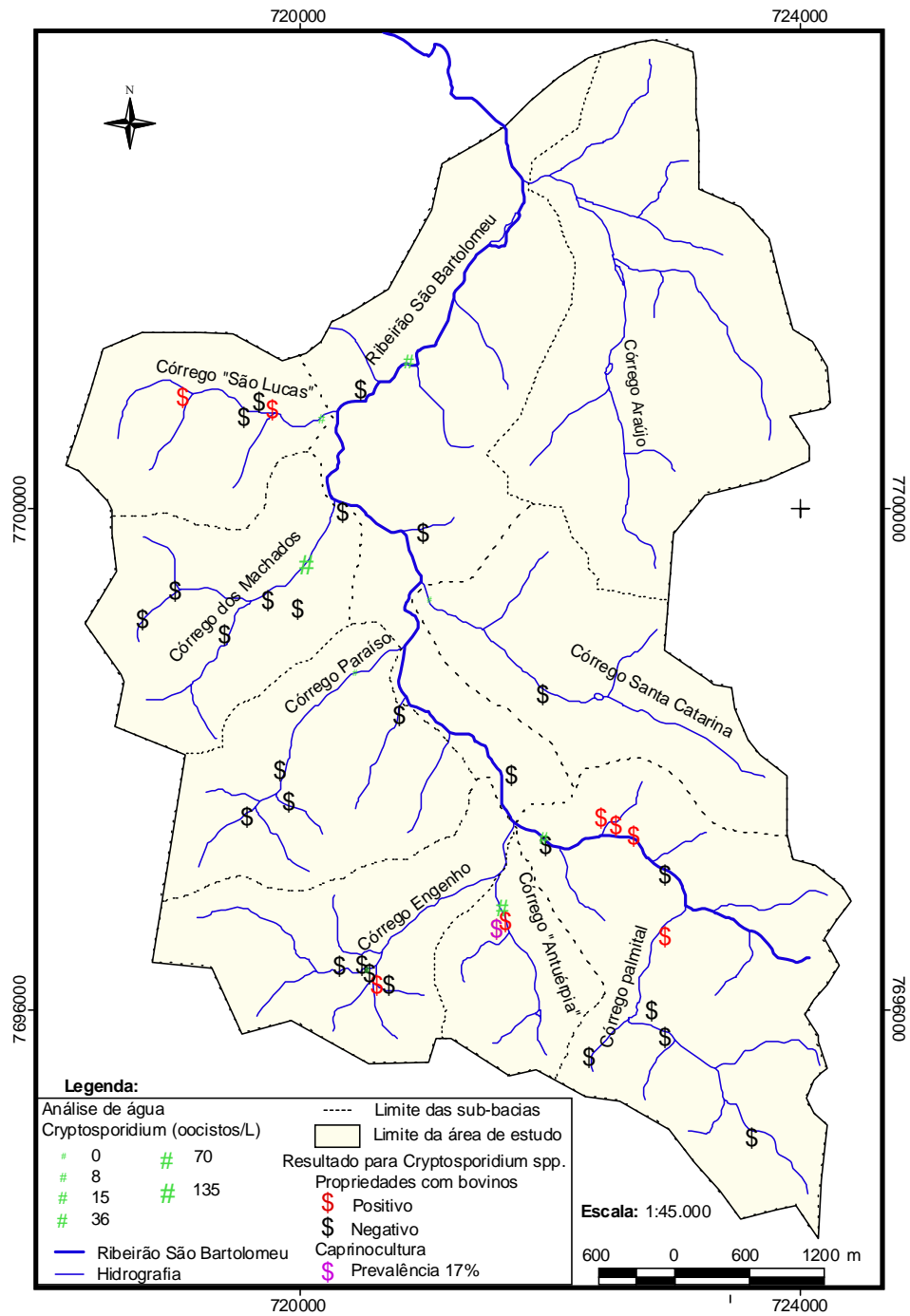


Figura 17 – Ocorrência de *Cryptosporidium* spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro a março de 2003.

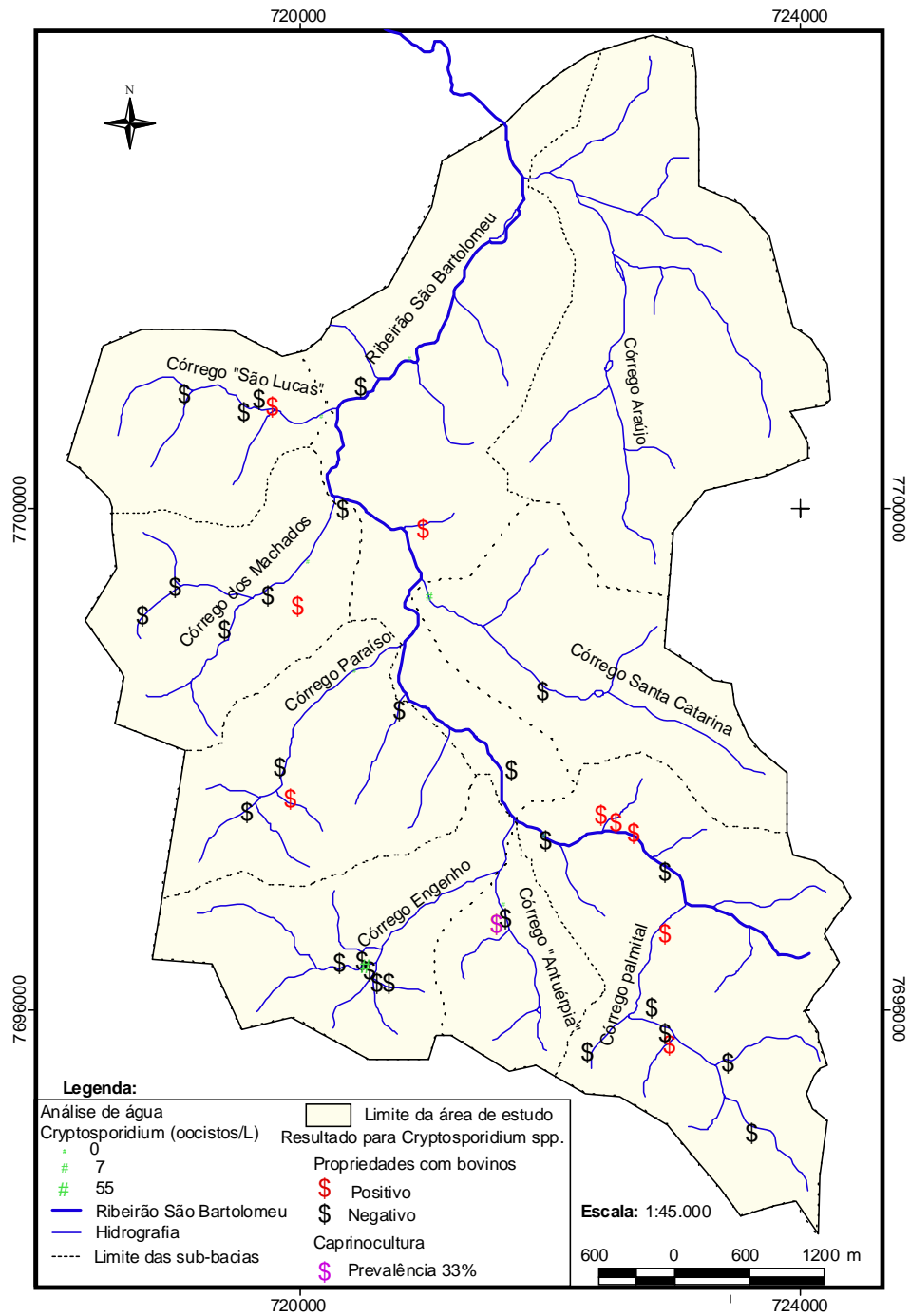


Figura 18 – Ocorrência de *Cryptosporidium* spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, maio a julho de 2003.

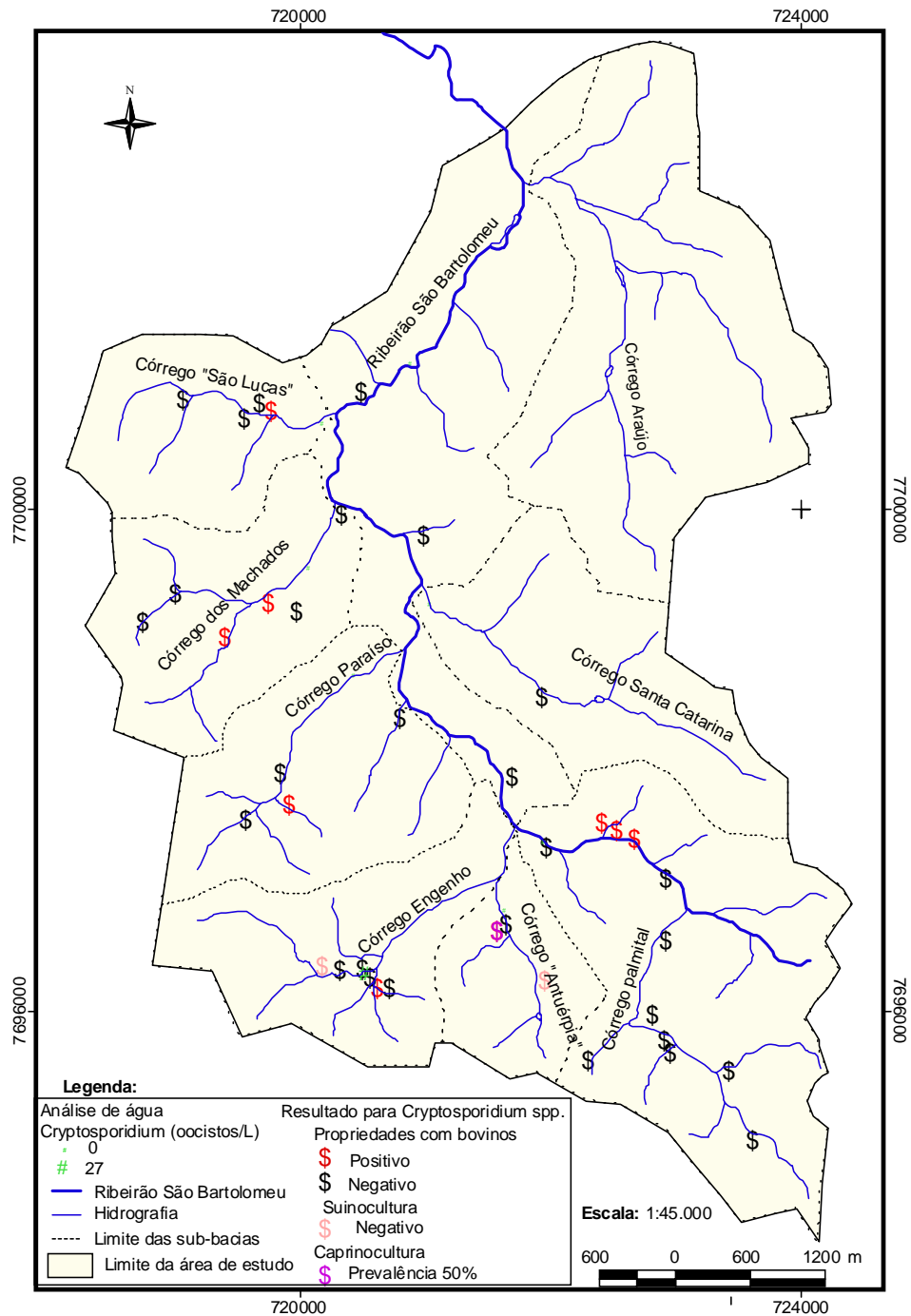


Figura 19 – Ocorrência de *Cryptosporidium* spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa–MG, agosto a outubro de 2003.

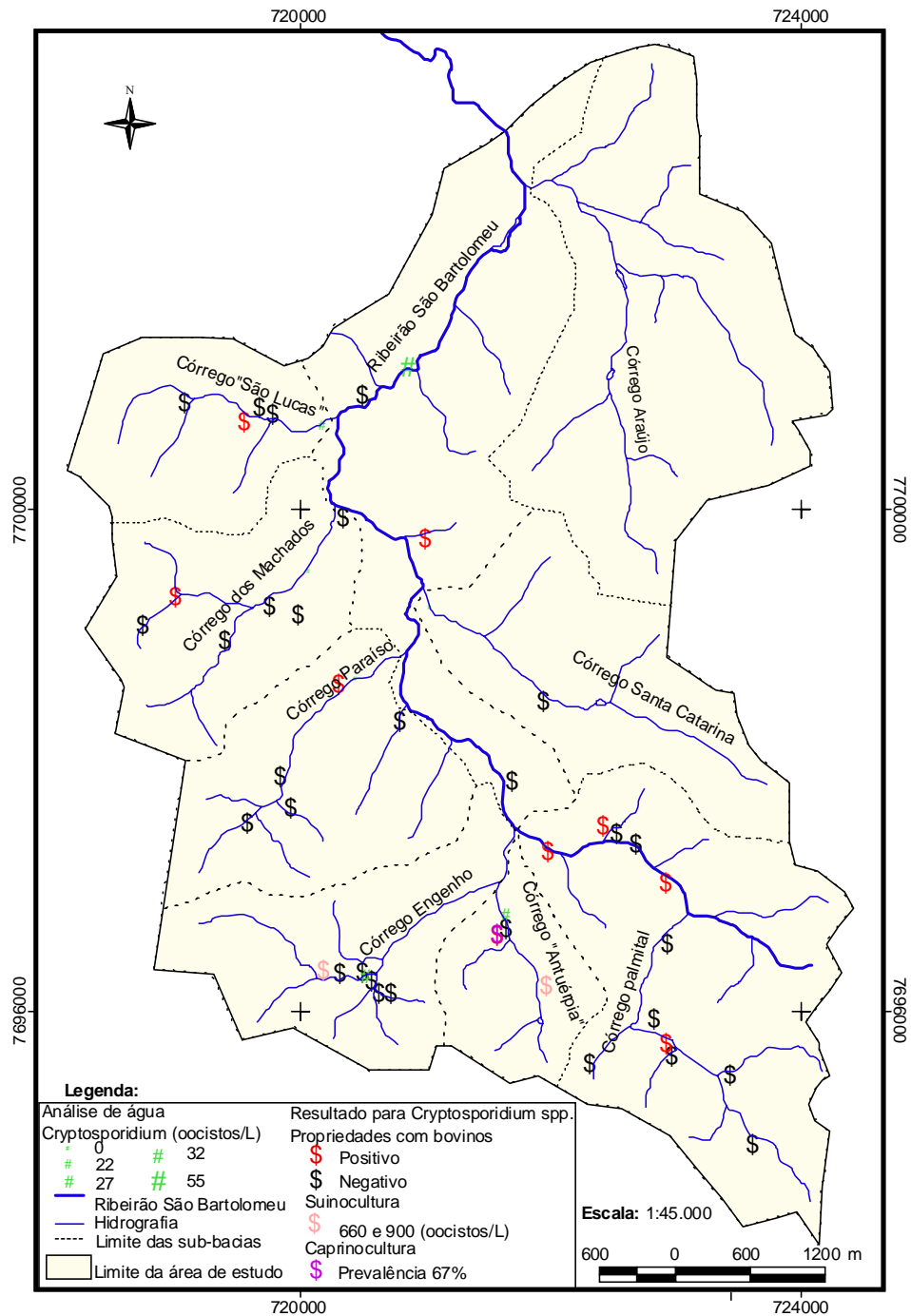


Figura 20 – Ocorrência de *Cryptosporidium* spp em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa–MG, novembro de 2003 a janeiro de 2004.

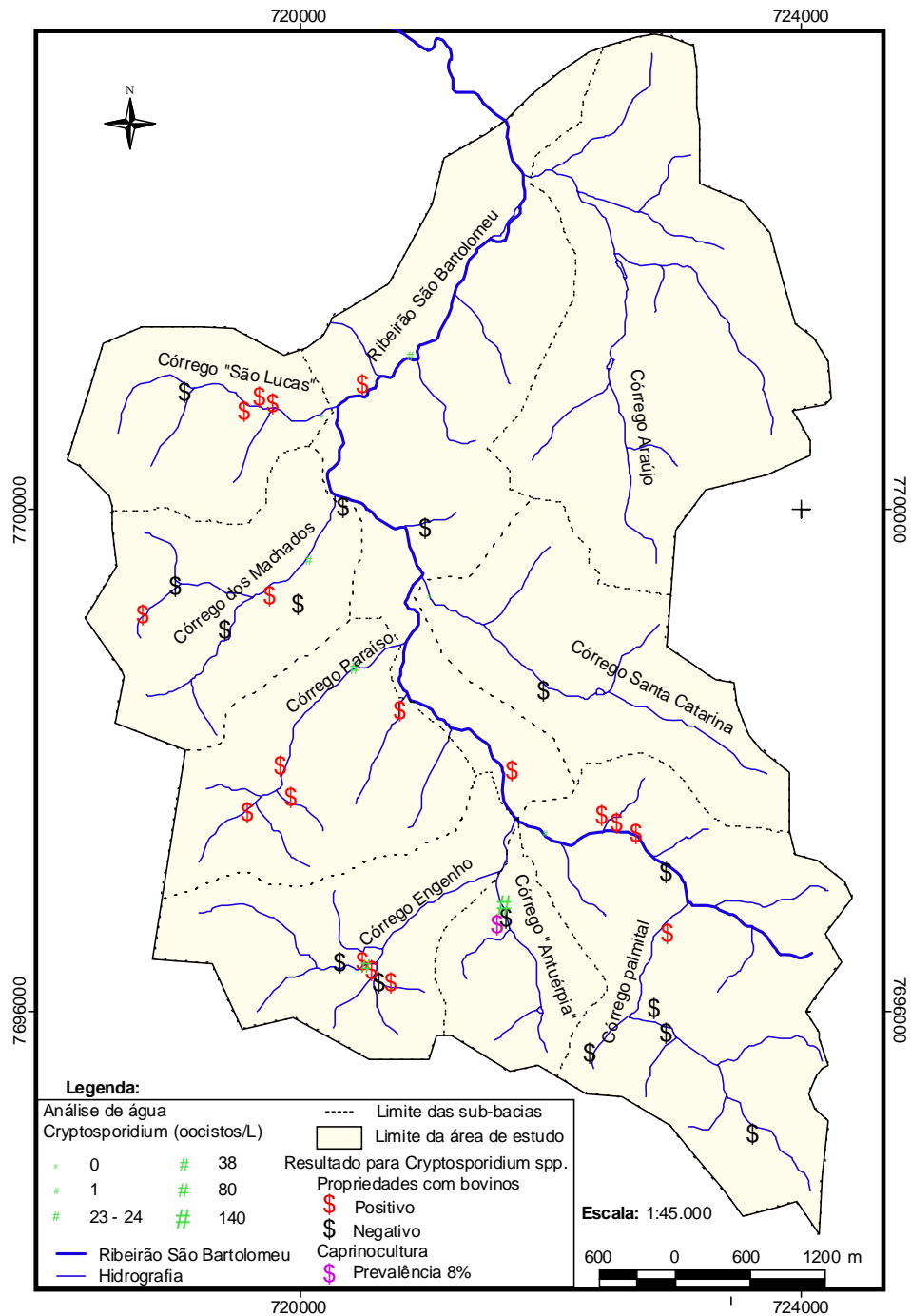


Figura 21 – Ocorrência de *Giardia* spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa–MG, janeiro a março de 2003.

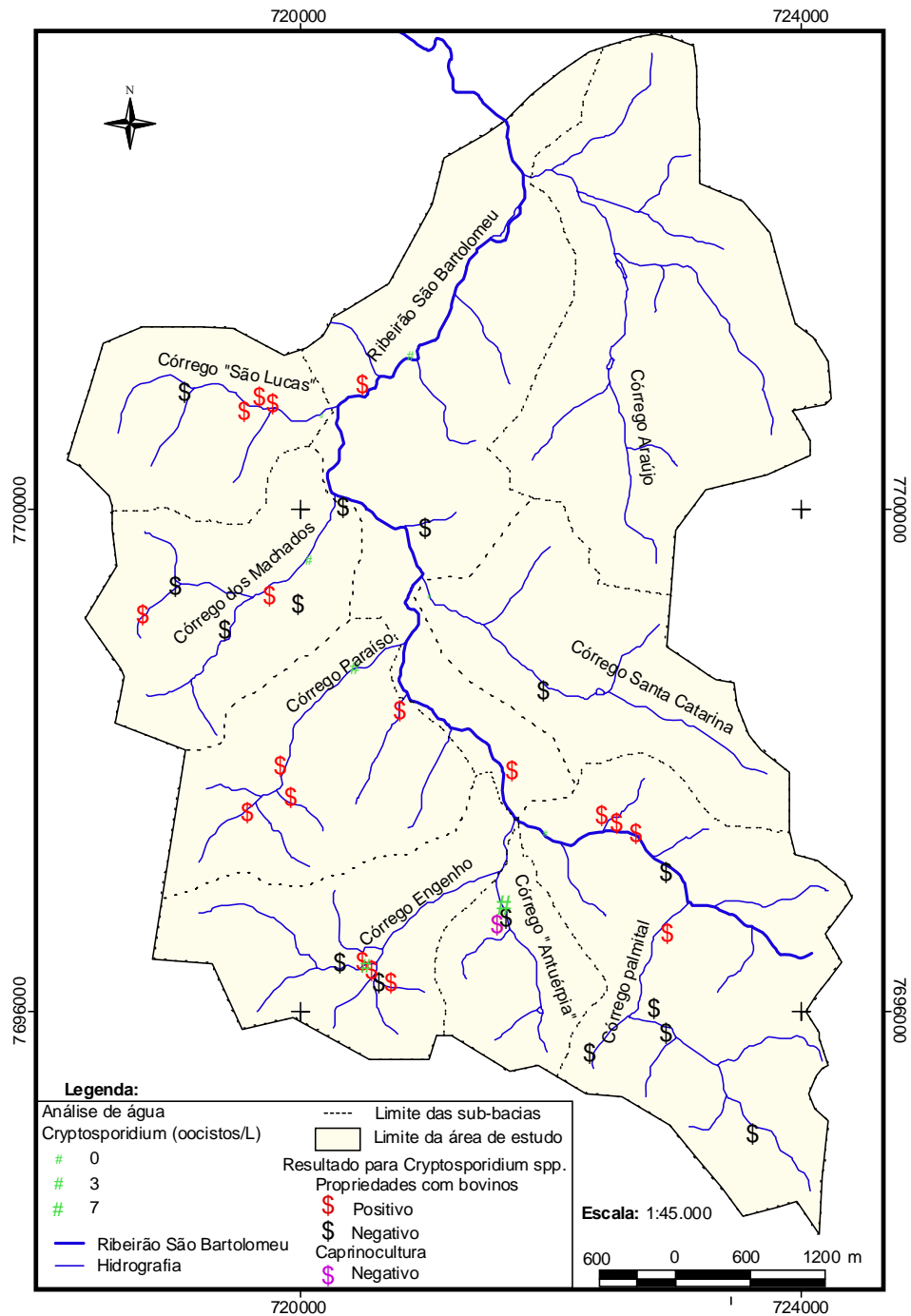


Figura 22 – Ocorrência de *Giardia* spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa–MG, maio a julho de 2003.

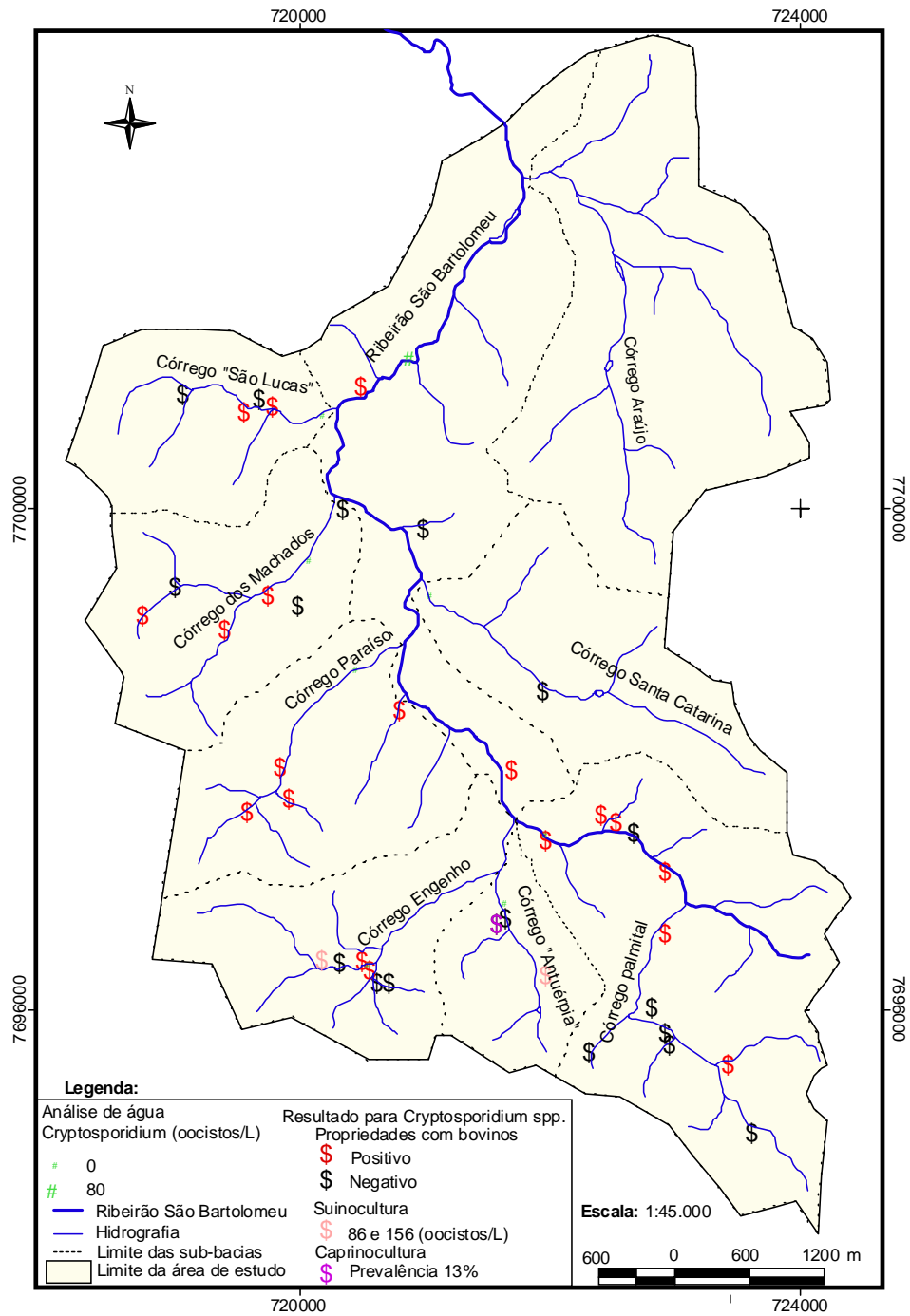


Figura 23 – Ocorrência de *Giardia* spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, agosto a outubro de 2003.

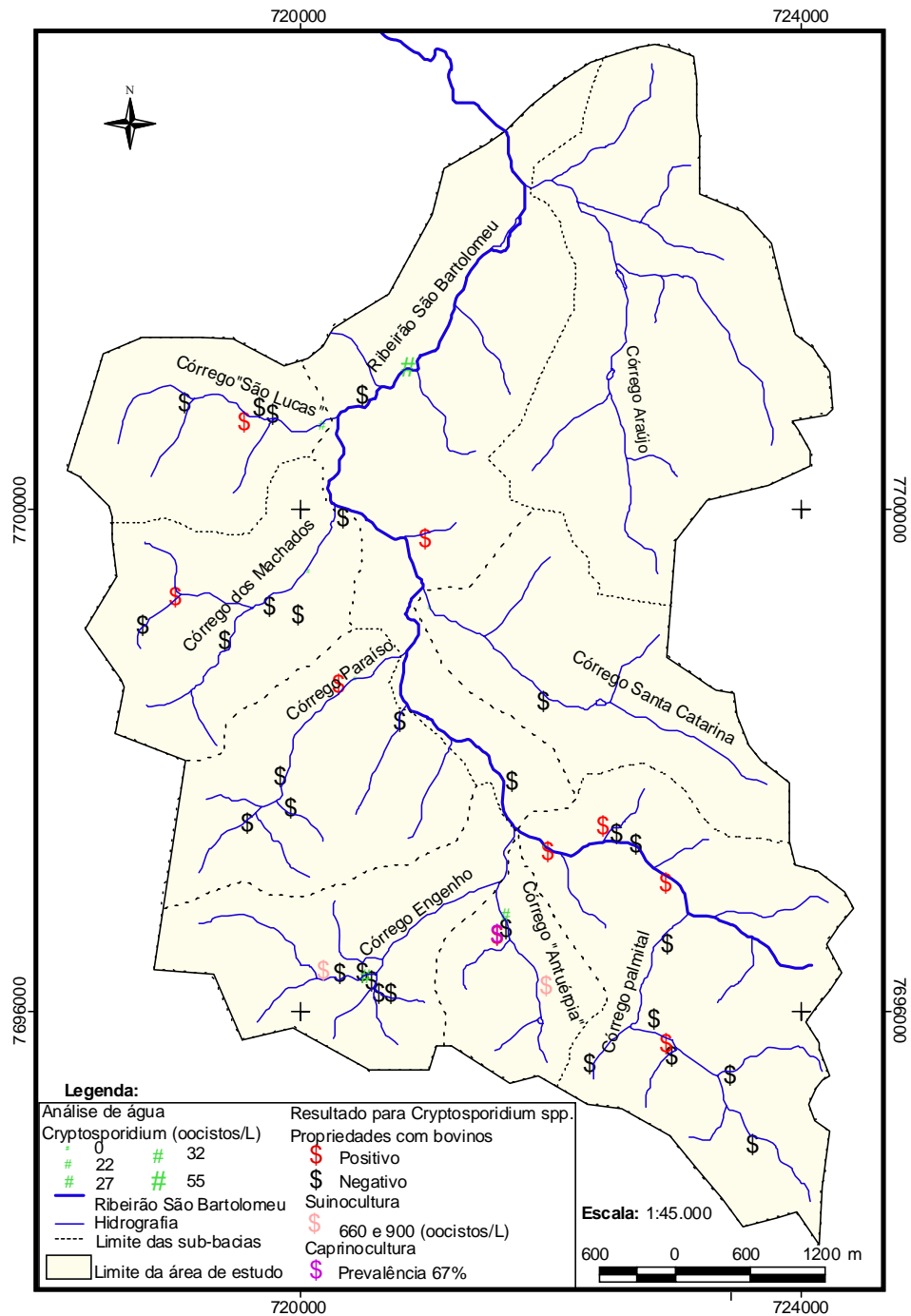


Figura 24 – Ocorrência de *Giardia* spp. em amostras de água e na população animal, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa–MG, novembro de 2003 a janeiro de 2004.

A sub-bacia 7, 'Córrego do Engenho', destacou-se por apresentar maior contaminação ao longo do período estudado. A ocorrência de (oo)cistos nessa sub-bacia foi bastante semelhante à do RSB, sendo que, inclusive, verificamos em média maior ocorrência para oocistos de *Cryptosporidium* do que para o RSB (Tabela 3). É importante ressaltar que nessa sub-bacia existe uma suinocultura, (suinocultura 1), cuja análise do esgoto bruto revelou altas concentrações de (oo)cistos de protozoários (Tabela 9). Esse fato nos permite afirmar que a exploração animal na área da bacia hidrográfica do RSB sem tratamento adequado dos dejetos contribui para a deterioração da qualidade parasitológica do manancial superficial.

Considerando-se, conjuntamente, os resultados da pesquisa de (oo)cistos em fezes bovinas (Tabela 7) e caprinas (Tabela 8) com os resultados da pesquisa nos efluentes das suinoculturas (Tabela 9), verifica-se que ambas as sub-bacias, 'Córrego Antuérpia' e 'Córrego do Engenho', são as que mais recebem contribuições de dejetos animais contaminados com (oo)cistos de protozoários. De fato, a avaliação da qualidade parasitológica da água bruta desses mananciais revelou o pior perfil ao longo do período de monitoramento (Tabela 3).

De forma a melhor explorar a relação entre a presença de propriedades com explorações animais e qualidade parasitológica da água, inicialmente, as propriedades foram mapeadas segundo a sub-bacia (Figura 25). Posteriormente, foi realizada análise considerando a localização do curral/estábulo, o fluxo de água (escoamento superficial) no local do curral/estábulo e a distância desse até o curso d'água.

A Tabela 12 resume a estatística descritiva do escoamento de água e da distância do curral ao curso d'água segundo as sub-bacias. Importante observar que as maiores médias de escoamento superficial foram observadas para as sub-bacias 'Córrego Antuérpia' e 'Córrego Palmital' (2.195,95 e 1.306,76 células, respectivamente), sendo que a primeira apresentou elevadas médias de ambos os protozoários durante todo o período estudado (Tabela 3).

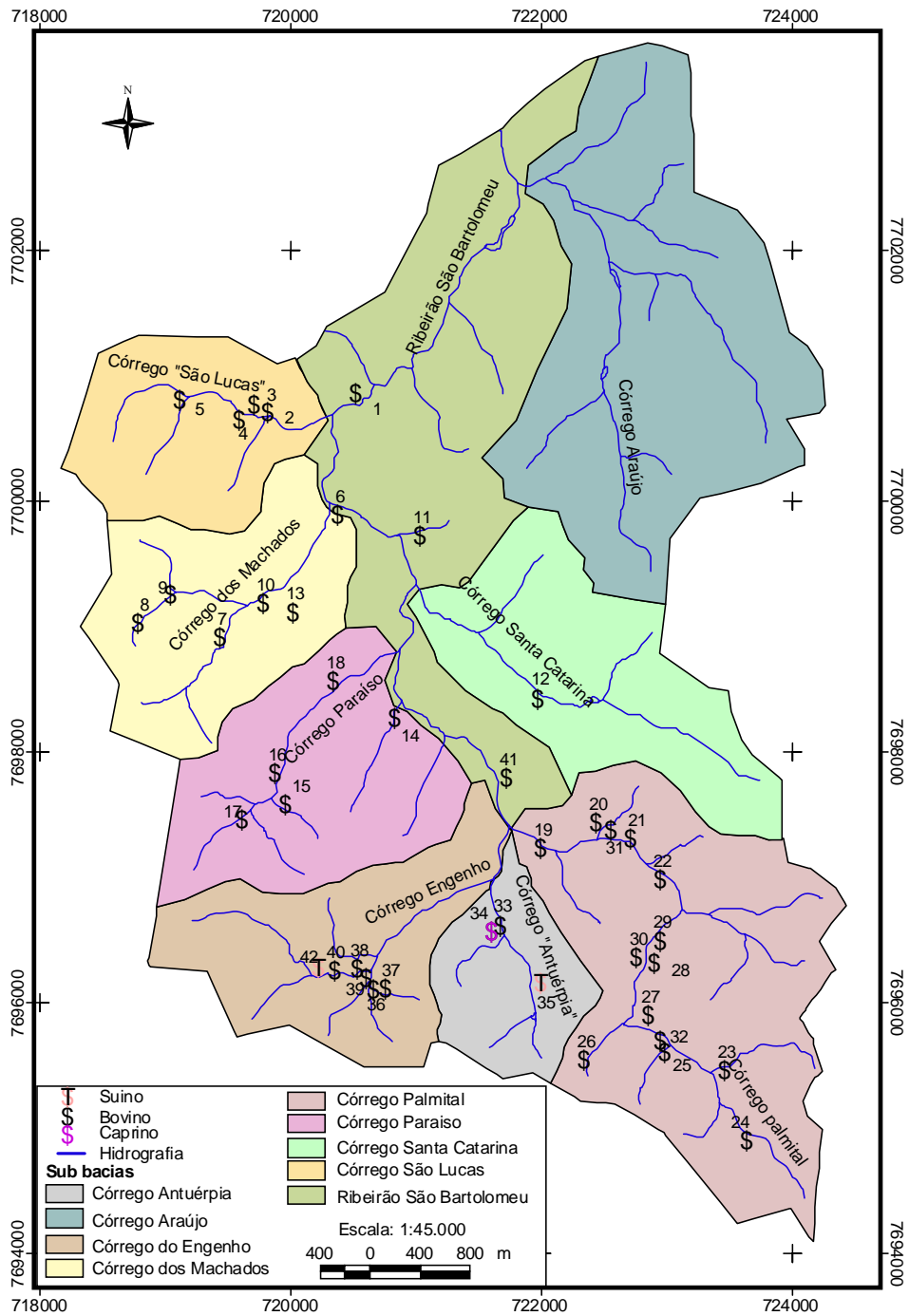


Figura 25 – Divisão das sub-bacias e localização das propriedades rurais, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, 2004.

Na segunda sub-bacia, ‘Córrego Palmital’, é importante destacar que essa área apresenta o maior número de propriedades rurais e a maior concentração de bovinos (Tabela 10). A variável escoamento da água representa a quantidade de água que esco para o ponto georreferenciado, no caso o curral ou estábulo. Como o curso d’água representa o ponto mais baixo do terreno e, conseqüentemente, o maior valor da variável escoamento, significa que ele recebe a água de todas as células definidas dentro do limite de cada sub-bacia. Assim, essa variável, por indicar o número de células que drenam água para o local georreferenciado, permite inferir a quantidade de água que o local recebe e que, conseqüentemente, vai para o curso d’água mais próximo. Dessa forma, as sub-bacias ‘Córrego Antuérpia’ e ‘Córrego Palmital’ por terem apresentado os maiores valores, seriam aquelas cujos currais/estábulo georreferenciados mais drenariam água para os cursos d’água de respectivos nomes.

Tabela 12 – Estatística descritiva do escoamento de água e da distância do curral ao curso d’água segundo sub-bacia, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, 2007

SUB-BACIA	ESCOAMENTO DE ÁGUA (células)			DISTÂNCIA DO CURRAL AO CURSO D’ÁGUA (m)		
	MÉDIA	DP ⁽¹⁾	CV ⁽²⁾	MÉDIA	DP ⁽¹⁾	CV ⁽²⁾
Ribeirão São Bartolomeu	63,55	70,87	111,5	66,67	24,66	37,0
Córrego São Lucas	15,83	4,54	28,7	43,75	23,94	54,7
Córrego dos Machados	724,89	974,85	134,5	70,83	84,70	119,6
Córrego Santa Catarina	160,44	-	-	35,0	-	-
Córrego Paraíso	49,26	79,99	162,4	44,0	21,62	49,1
Córrego Palmital	1.306,76	4.274,17	327,1	57,17	34,76	60,8
Córrego Antuérpia	2.195,95	3.024,93	137,8	85,0	0,0	0,0
Córrego Engenho	723,53	804,98	111,3	52,0	28,42	54,6

NOTAS: (1) Desvio padrão. (2) Coeficiente de variação (%).

Vale ressaltar que o Palmital é a sub-bacia que abriga a nascente do Ribeirão São Bartolomeu, local que deveria estar sobre proteção ambiental. Ainda na Tabela 12, observa-se que o curral/estábulo das propriedades se localizam em áreas próximas aos cursos d’água sendo, 85,0 metros a maior distância média e 35,0 metros a menor.

O Código Florestal (Lei n.º4.771/65) preconiza a preservação da mata ciliar, classificada como área de preservação permanente (APP), e ainda prescreve que a mata ciliar deve ser mantida intocada, e caso esteja degradada deve-se prever a imediata recuperação. A extensão da mata ciliar é proporcional à largura do curso d’água, assim,

para córregos com menos de 10 metros, (o caso dos córregos estudados) a extensão mínima de mata ciliar dever ser de 30 metros para cada margem.

A Tabela 12 e o documentário fotográfico exposto na Figura 16 comprovam que além de não existir mata ciliar nas áreas estudadas da bacia hidrográfica do RSB, ainda existem outros fatores que potencializam a contaminação do manancial superficial, como o acesso dos animais ao curso d'água e a localização dos currais/estábulo. Observando os dados da Tabela 12 juntamente com o desvio padrão, constata-se que grande parte das propriedades possui o curral localizado em área que deveria ser destinada à preservação.

As variáveis escoamento superficial e distância do curral ao curso d'água foram testadas para existência de correlação com a presença de protozoários na água (média geométrica de *Giardia* e *Cryptosporidium* individualmente e ambos protozoários), sendo os resultados apresentados na Tabela 13. Também nesse caso, a sub-bacia 'Ribeirão São Bartolomeu' foi excluída da análise pelo fato de receber todo o aporte hídrico das demais sub-bacias. O nível de significância adotado para as análises espaciais foi de 10%.

Tabela 13 – Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre (oo)cistos e variáveis escoamento de água e distância do curral ao curso d'água, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

VARIÁVEIS	NÚMERO DE PARES	COEFICIENTE SPEARMAN (rs)	VALOR DE p
Escoamento x <i>Giardia</i>	7	0,378	0,40
Escoamento x <i>Cryptosporidium</i>	7	0,714	0,07
Escoamento x Protozoários ⁽¹⁾	7	0,714	0,07
Distância x <i>Giardia</i>	7	0,487	0,27
Distância x <i>Cryptosporidium</i>	7	0,821	0,02
Distância x Protozoários ⁽¹⁾	7	0,857	0,01

NOTA: (1) Média geométrica calculada considerando a ocorrência de ambos os protozoários nas amostras de água.

Considerando a variável 'escoamento superficial' foi observada correlação estatisticamente significativa com as médias de *Cryptosporidium* e ambos protozoários ($p < 0,10$). O mesmo não foi observado para *Giardia* ($p = 0,40$). Entretanto, é importante ressaltar que nem toda água será escoada até o curso d'água, existem outras variáveis que interferem no escoamento como a infiltração no solo e o 'caminho' que a água deve seguir até o curso d'água, ou seja, a distância e características do terreno e de cobertura do solo.

A variável 'distância do curral/estábulo até o curso d'água' revelou melhores resultados de correlação com as médias geométricas dos protozoários individualmente e em conjunto, tendo, inclusive, apresentado valores estatisticamente significativos para a média

de *Cryptosporidium* ($p = 0,02$) e para a média de protozoários ($p = 0,01$). Entretanto a correlação encontrada foi positiva, ou seja, quanto maior a distância do curral ao curso d'água maior a presença de protozoários na água, sendo que a expectativa era de correlação inversa. Talvez, a distância do curral ao curso d'água não seja uma variável adequada para esse tipo de análise uma vez que a proximidade do curral ao manancial não é a única variável que determinará a contaminação. Outras variáveis podem estar interferindo como a própria cobertura vegetal, absorção da água pelo solo, o volume de água que realmente é escoado até o manancial superficial, acesso dos animais ao curso d'água ou às proximidades desses, dentre outras, sugerindo a necessidade de mais estudos e a exploração de outras variáveis de forma a melhor caracterizar as correlações entre esses parâmetros.

A Figura 26 auxilia na visualização e caracterização da cobertura vegetal e uso do solo e, a Tabela 14 resume, em hectares, as diferentes modalidades de uso do solo e cobertura vegetal segundo as sub-bacias na bacia hidrográfica do RSB.

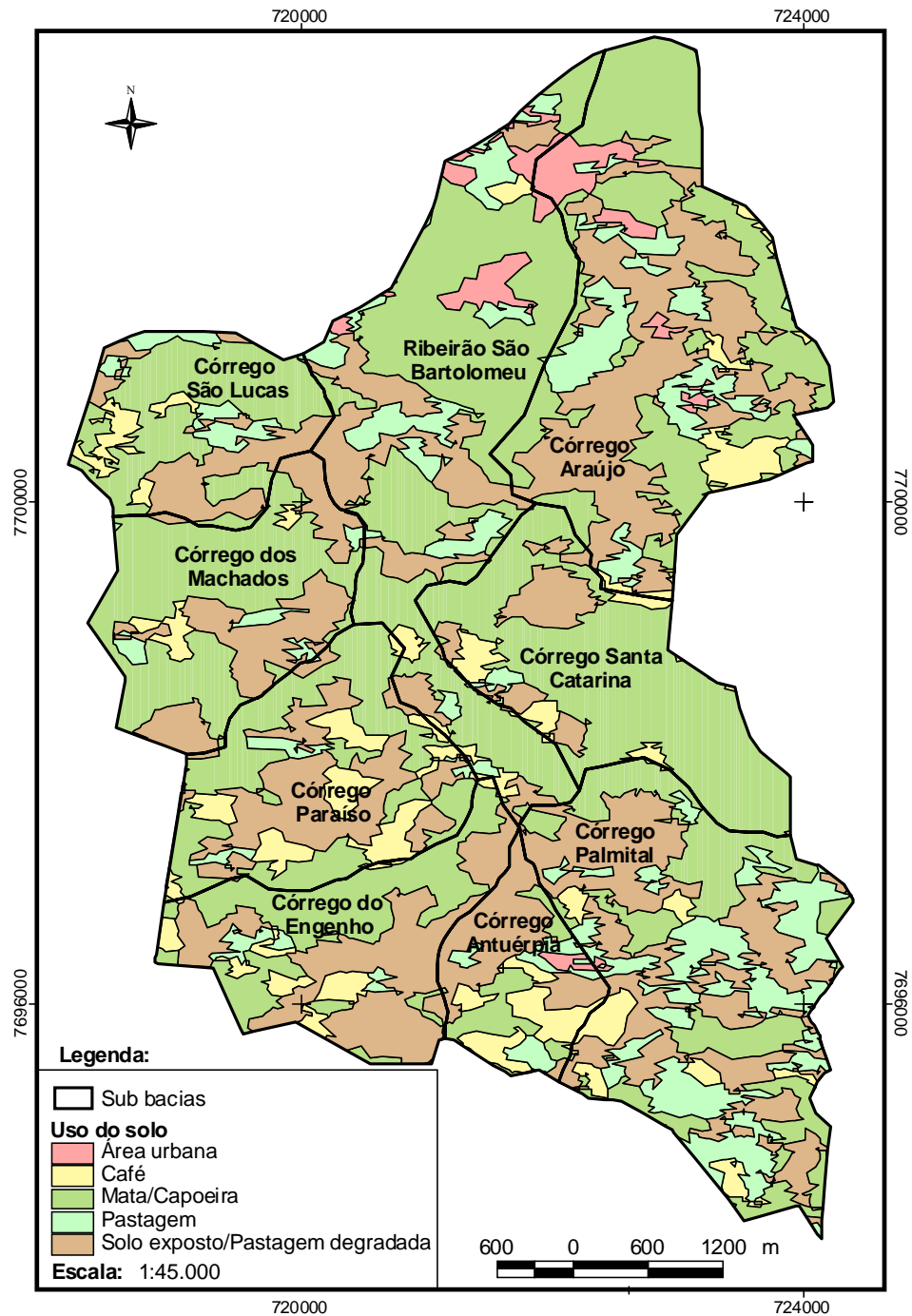


Figura 26 – Uso do solo e cobertura vegetal na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG, 2004.

Tabela 14 – Uso do solo e cobertura vegetal em hectares, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

SUB-BACIAS	SOLO EXPOSTO/ PASTAGENS DEGRADADAS		ÁREA URBANA		PASTAGENS		MATA/ CAPOEIRA		CAFÉ		TOTAL
	Área (ha)	%	Área (ha)	%	Área (ha)	%	Área (ha)	%	Área (ha)	%	
São Bartolomeu	118,21	19,4	36,11	5,9	75,19	12,3	364,09	59,8	15,74	2,3	609,34
Córrego São Lucas	60,76	25,2	0,0	0,0	23,98	10,0	136,40	56,6	19,78	5,9	240,92
Córrego dos Machados	100,06	31,8	0,0	0,0	13,96	4,4	188,93	60,1	11,59	2,8	314,54
Córrego Paraíso	116,93	34,6	0,0	0,0	11,18	3,3	149,21	44,2	60,51	14,4	337,83
Córrego Santa Catarina	49,00	14,2	0,0	0,0	4,2	1,2	268,47	77,7	23,68	5,4	345,35
Córrego Palmital	227,91	38,3	0,82	0,14	159,42	26,8	170,09	28,6	36,99	5,4	595,23
Córrego Antuérpia	66,94	43,7	4,11	2,7	17,77	11,6	29,25	19,1	35,15	15,3	153,22
Córrego do Engenho	139,53	45,5	0,0	0,0	10,62	3,5	128,85	42,1	27,41	6,9	306,41
TOTAL	879,34		41,04		316,64		1.435,29		230,85		2.023,82

Embora os dados da Tabela 14 e a Figura 26 indiquem uma grande área composta por mata/capoeira, é importante destacar que não foi possível distinguir a mata nativa de capoeira, que seria a mata reflorestada, ou seja, esse dado não se refere, obrigatoriamente, a áreas de preservação. A área do Córrego Santa Catarina apresenta a maior extensão de mata/capoeira (77,7%) devido à existência da Mata do Paraíso, área de preservação ambiental sob responsabilidade da UFV. Outro aspecto que chama a atenção é a grande área de solo exposto/pastagens degradadas somadas às pastagens na região da sub-bacia do Palmital (total 387,33 ha) cerca de 65,1% de toda área da sub-bacia. Como dito anteriormente, essa bacia abriga a nascente do RSB, sendo necessária a atenção e investimentos de setores/órgãos competentes relacionados à preservação dessa área.

Considerando os dados da Tabela 14, podemos observar que as sub-bacias ‘Córrego Antuérpia’ e ‘Córrego Engenho’ apresentam elevadas porcentagens de solo exposto/pastagens degradadas 43,7% e 45,5%, respectivamente. Entretanto, o Teste de Spearman não revelou correlação entre essa variável e a presença de protozoários na água (Tabela 15); contudo, é importante citar que ambas sub-bacias se caracterizaram por elevadas concentrações médias de protozoários conforme Tabela 3.

A Tabela 15 apresenta os resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman entre (oo)cistos e o uso do solo em hectares na bacia hidrográfica do RSB.

Tabela 15 – Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre (oo)cistos e uso do solo em hectares, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro de 2003 a janeiro de 2004

VARIÁVEIS	MÉDIAS GEOMÉTRICAS					
	<i>Giardia</i>		<i>Cryptosporidium</i>		Protozoários ⁽¹⁾	
	Coefficiente Spearman (rs)	Valor de p	Coefficiente Spearman (rs)	Valor de p	Coefficiente Spearman (rs)	Valor de p
Solo expostos	-0,198	0,67	0,321	0,48	0,00	0,00
Pastagens	-0,559	0,19	0,321	0,48	-0,214	0,64
Mata/Capoeira	-0,360	0,43	-0,357	0,43	-0,179	0,70

Os estudos de correlação embora não tenham demonstrado resultados estatisticamente significativos ($p > 0,05$) revelaram dados interessantes para a variável mata/capoeira. Observamos correlação negativa para todas as médias indicando que áreas com maior cobertura vegetal (mata/capoeira) apresentam menor ocorrência de protozoários no manancial superficial.

5.2. Estudo 2: Enteroparasitas na população humana residente na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu

O estudo sobre a ocorrência de enteroparasitas na população humana residente na bacia hidrográfica do RSB foi desenvolvido no período de julho de 2004 a julho de 2005. Inicialmente, foi realizada uma visita casa a casa no bairro Romão dos Reis e na Vila Dona Elisa de Paula (Figura 2), para levantar o número de crianças com idade entre 0 e 10 anos que potencialmente fariam parte do estudo. A partir de então, todas as residências com crianças dentro dessa faixa etária foram visitadas e convidadas a participar da pesquisa. Os casos de aceite foram formalizados com assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecimento por parte do responsável pelo menor (APÊNDICE C).

No levantamento realizado foram detectadas 51 crianças sendo 36 residentes no bairro Romão dos Reis e 15 na Vila Dona Elisa de Paula. Foi aplicado questionário contendo informações demográficas, sócio-econômicas e de saneamento local para caracterização do perfil populacional estudado e definição de fatores de risco associados à infecção. A análise do questionário revelou que a população do estudo era constituída por 51,0% crianças do sexo masculino e 49,0% do sexo feminino; a idade média foi de 6,5 anos (desvio padrão 3,1), sendo a maioria maior de cinco anos (58,8%), e 70,6% das crianças freqüentavam creche ou escola em meio período. Considerando a renda familiar, a maioria da população estudada (80,4%) tinha renda menor que dois salários mínimos, sendo a renda média igual a 1,6 SM (Tabela 16).

Comparando as duas comunidades, em relação às variáveis sócio-demográficas, não existiam diferenças evidentes, com exceção do sexo, onde na Vila Dona Elisa de Paula existiam mais crianças do sexo masculino (73,3%) do que do sexo feminino (26,7%). Para as demais variáveis, as populações seguem o que foi descrito para a população total.

A distribuição da população estudada segundo as variáveis de saneamento está apresentada na Tabela 17. Toda a população tinha acesso ao sistema público de abastecimento de água, porém 25,5% não consumiam a água devido ao preço (84,6%) ou suspeita da qualidade (15,4 %). Das fontes alternativas de água utilizadas, o maior percentual correspondeu à cisterna 42,8%, sendo que na região de Viçosa, essa denominação é utilizada como referência ao poço raso, com captação do lençol freático (aquífero não confinado). A canalização interna de água esteve presente em 92,2% da população, o uso da caixa d'água abrangia 100% da população, porém em 7,84% não encontrava-se adequadamente tampada. O uso de filtro doméstico era praticado por 92,2% da população e 70,6% tinham o esgoto sanitário ligado à rede pública.

De forma geral, observamos que as condições de saneamento eram melhores na comunidade do Romão dos Reis do que na Vila Dona Elisa de Paula. Nessa comunidade, 26,7% não tinham acesso ao sistema público de abastecimento de água, sendo que 73,3% consumiam água de fontes alternativas (63,6% de cisterna e 36,4% de mina). O preço foi o motivo citado por 100% dos indivíduos para não consumir água do sistema público de abastecimento. O uso de filtro doméstico e a existência de canalização interna de água foram relatados por 73,3% dos indivíduos e 100% não possuíam esgotamento sanitário, lançando o esgoto diretamente no córrego (76,3%) ou depositando-o em fossas (26,7%).

Tabela 16 – Distribuição da população estudada segundo variáveis sócio-demográficas, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005

VARIÁVEL/ CATEGORIA	ROMÃO DOS REIS		VILA D. ELISA DE PAULA		TOTAL	
	INDIVÍDUOS	%	INDIVÍDUOS	%	INDIVÍDUOS	%
Sexo						
Feminino	21	58,3	4	26,7	25	51,0
Masculino	15	41,7	11	73,3	26	49,0
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Idade (anos)						
≤ 1	1	2,8	1	6,7	1	2,0
1 a 5	14	38,9	6	40,0	20	39,2
> 5	21	58,3	8	53,3	30	58,8
Média (DP)	6,3 (2,8)	-	6,9 (3,7)	-	6,5 (3,1)	-
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Freqüente creche						
Sim	25	69,4	11	73,3	36	70,6
Não	11	30,6	4	26,7	15	29,4
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Renda familiar (SM) ⁽¹⁾						
< 1	5	13,9	1	6,7	6	11,8
1 a 2	26	72,2	10	66,6	35	68,6
3 a 4	3	8,3	3	20,0	7	13,7
≥ 8	1	2,8	0	0,0	1	2,0
Não informou	1	2,8	1	6,7	2	3,9
Média (DP)	1,5 (1,4)	-	1,9 (1,0)	-	1,6 (1,4)	-
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0

NOTA: (1) Salário mínimo vigente na época do estudo igual a R\$ 260,00.

Tabela 17 – Distribuição da população estudada segundo variáveis de saneamento, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005

VARIÁVEL/ CATEGORIA	ROMÃO DOS REIS		VILA D. ELISA DE PAULA		TOTAL	
	INDIVÍDUOS	%	INDIVÍDUOS	%	INDIVÍDUOS	%
Abastecimento de água						
Ausente	0	0,0	4	26,7	0	0,0
Presente	36	100,0	11	73,3	51	100,0
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Consumo da água de abastecimento público						
Sim	34	94,4	4	26,7	38	74,5
Não	2	5,6	11	73,3	13	25,5
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Motivo para não consumir água do sistema público de abastecimento						
Preço cobrado pelo serviço	0	0,0	11	100,0	11	84,6
Suspeita da qualidade da água	2	100,0	0	0,0	2	15,4
TOTAL	2	100,0	11	100,0	13	100,0
Consumo de água de fonte alternativa						
Sim	3	8,3	11	73,3	14	27,5
Não	33	91,7	4	26,7	37	72,5
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Tipo de fonte alternativa de água						
Poço artesiano	0	0,0	0	0,0	4	28,6
Cisterna	3	100,0	7	63,6	6	42,8
Mina	0	0,0	4	36,4	4	28,6
TOTAL	3	100,0	11	100,0	14	100,0
Canalização interna de água						
Sim	36	100,0	11	73,3	47	92,2
Não	0	0,0	4	26,7	4	7,8
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Uso de filtro doméstico						
Sim	36	100,0	11	73,3	47	92,2
Não	0	0,0	4	26,7	4	7,8
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0
Esgotamento sanitário						
Rede pública	36	100,0	0	0,0	36	70,6
Córrego	0	0,0	11	73,3	11	21,6
Fossa	0	0,0	4	26,7	4	7,8
TOTAL	36	100,0	15	100,0	51	100,0

Com relação aos resultados dos exames de fezes, identificamos, durante o período de acompanhamento, prevalência média de 21,1% de enteroparasitas, sendo 12,2% na comunidade de Romão dos Reis e 8,9% na Vila Dona Elisa de Paula. A incidência geral foi igual a 13,2%, para o Romão dos Reis encontramos 13,3% e para a Vila Dona Elisa de Paula, 12,9%. Embora as prevalências, aparentemente, sejam diferentes, o risco (incidência) de crianças apresentarem resultado de fezes positivo para enteroparasitas é praticamente o mesmo em ambas as comunidades, justificando a análise em conjunto dos resultados.

A prevalência geral por período foi de 37,8% no primeiro, 26,2% no segundo, 13,7% no terceiro e 11,9% no quarto (Tabela 18). A redução verificada pode ter ocorrido em função de tratamentos realizados pelas pessoas, uma vez que a partir do resultado positivo o(a) responsável pela criança era orientado(a) a procurar atendimento médico.

A distribuição dos resultados positivos segundo o enteroparasita demonstra a maior prevalência de *Giardia duodenalis* (6,1%) e *Ascaris lumbricoides* (3,9%). Além das espécies parasitas foram encontradas também espécies comensais, como a *Entamoeba coli* (9,4%), conforme Tabela 18. Estes resultados confirmam vários achados da literatura que indicam serem estas as parasitoses mais freqüentemente encontradas na população brasileira e mundial, bem como a espécie comensal referida (FEACHEM et al., 1983, MONTEIRO et al., 1988, MOTT, et. al., 1990, CROMPTON; SAVIOLI, 1993, FERREIRA; MARÇAL JÚNIOR, 1997, COSTA-MACEDO et al., 1998, NEVES, 2000, GIRALDI et al., 2001). Resultados semelhantes foram encontrados em estudo realizado no município de Viçosa (OLIVEIRA; BEVILACQUA, 2001).

É importante ressaltar a ocorrência do parasita *Giardia* spp. ao longo de todo o estudo e a ausência de *Cryptosporidium* spp. na população humana estudada (Tabela 18).

Tabela 18 – Prevalência de enteroparasitas na população residente na bacia do RSB segundo o período de coleta e o agente, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005

PARASITA	COLETA ⁽¹⁾									
	1º Jul/2004		2º Out/2004		3º Jan/2005		4º Mai/2005		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	8,9	0	0,0	1	2,0	2	4,8	7	3,9
<i>Enterobius vermicularis</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,4	1	0,6
<i>Entamoeba coli</i>	8	17,8	4	9,5	5	9,8	0	0,0	17	9,4
<i>Entamoeba histolytica</i>	0	0,0	2	4,8	0	0,0	0	0,0	2	1,1
<i>Giardia duodenalis</i>	5	11,1	3	7,1	1	2,0	2	4,8	11	6,1
<i>Endolimax nana</i>	0	0,0	2	4,8	0	0,0	0	0,0	2	1,1
<i>Cryptosporidium spp.</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TOTAL	17	37,8	11	26,2	7	13,7	5	11,9	40	22,2⁽²⁾

NOTA: (1) Prevalências calculadas em função do número de crianças que entregou amostras de fezes para realização do exame coprológico: 45 no primeiro, 42 no segundo, 51 no terceiro e 42 no quarto períodos de coleta. (2) Inclui a ocorrência de poliparasitismo, dois casos no período total de acompanhamento.

Tabela 19 – Resultados das análises de associação entre exame coprológico positivo para enteroparasitas e variáveis sócio-demográficas e de saneamento, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005

VARIÁVEIS	ENTEROPARASITA		χ^2	Valor de p	RAZÃO DE CHANCES (IC 95%) ⁽¹⁾
	SIM	NÃO			
Sexo					
Feminino	16	75	1,38	0,24	0,65 (0,30-1,42)
Masculino	22	67			
Idade (anos)					
≤ 1 a 5	15	64	0,38	0,54	0,79 (0,36-1,75)
> 5	23	78			
Renda Familiar (SM)⁽²⁾					
< 1	7	16	5,59	0,06	1,0
1 a 2	22	98			
3 a 8	10	16			
Freqüente creche					
Sim	28	96	0,52	0,47	1,34 (0,56-3,24)
Não	10	46			
Consumo da água de abastecimento público					
Não	13	43	0,22	0,64	1,2 (0,52-2,72)
Sim	25	99			
Uso de filtro doméstico					
Não	8	8	0,007 ⁽³⁾		4,47 (1,39-14,47)
Sim	30	134			
Esgotamento sanitário					
Córrego	8	35	8,8	0,012	1,0
Fossa	8	8			
Rede pública	22	99			

NOTAS: (1) Intervalo de confiança. (2) Salário mínimo vigente na época do estudo igual a R\$ 260,00. (3) Teste exato de Fisher.

Os estudos de associação entre a ocorrência de enteroparasitas e variáveis sócio-demográficas não apontaram existência de associações significativas, muito provavelmente devido ao tamanho reduzido da amostra estudada. Entretanto, cabem, ainda assim, algumas considerações.

Comparado as diferentes faixas de renda, embora o resultado não seja estatisticamente significativo ($p = 0,06$), observa-se que as menores faixas de renda (≤ 2 SM) sinalizam fatores de risco para ocorrência de enteroparasitas, enquanto a faixa de renda 3 a 8 SM, se a associação fosse significativa, apareceria como fator de proteção, razão de chances de 0,70 ($IC_{95\%} = 0,18-2,68$). Esses resultados são reconhecidos por ampla literatura que indica associações entre essas variáveis, sendo a população mais carente aquela mais exposta ao risco de apresentar enteroparasitas (MOTT et al., 1990, COSTA-MACEDO et al., 1998, MONTEIRO et al., 1988).

Considerando as variáveis de saneamento, observamos existência de associação estatisticamente significativa para uso doméstico de filtro ($p < 0,05$), sendo que a chance de encontrarmos crianças com enteroparasita e que não usam filtro doméstico é, aproximadamente, cinco vezes maior do que encontrarmos crianças parasitadas usando filtro doméstico. Resultado semelhante foi encontrado em estudo sobre fatores de risco associados a enteroparasitas realizado no município de Viçosa, tendo sido identificada razão de chances para ausência de filtro doméstico igual a 1,46 ($IC_{95\%} = 1,07-2,01$). (OLIVEIRA; BEVILACQUA, 2001). Embora seja precipitado estender a análise dessa associação no sentido de que o uso de filtro doméstico melhora a qualidade da água de consumo, uma vez que não se avaliou o tipo de filtro utilizado, a qualidade da conservação e a frequência de limpeza dos mesmos, é importante apontarmos o papel do filtro na perspectiva das ‘múltiplas barreiras’. Ou seja, não é a única intervenção que deve ser considerada para melhorar ou garantir a qualidade da água de consumo, mas é uma etapa a mais nesse processo.

Também foi observada associação entre a variável esgotamento sanitário e ocorrência de enteroparasitas ($p = 0,012$). Considerando o lançamento dos esgotos no córrego como principal exposição, encontramos que o uso de fossa é um fator de proteção, razão de chances de 0,23 ($IC_{95\%} = 0,05-0,93$), entretanto não foi observada essa mesma

associação para rede pública coletora de esgotos, razão de chances de 1,03 (IC_{95%} = 0,38-2,72). No estudo realizado por Oliveira e Bevilacqua (2001), também foi identificada associação entre enteroparasitas e esgotamento sanitário, entretanto, o uso de fossa foi a categoria considerada como de maior risco quando analisada em comparação às duas outras categorias, ‘rede pública’ e ‘córrego’, com 28,3% de prevalência de exames positivos.

Também nesse caso, é difícil a interpretação da associação, uma vez que não foram avaliadas as condições das fossas, nem as formas de disposição do esgoto no córrego. De qualquer forma, esperar-se-ia que a disposição a céu aberto fosse a de maior exposição para a ocorrência de enteroparasitas na população.

Adicionalmente e paralelamente às coletas de fezes da população humana, coletaram-se também amostras de água bruta do RSB e do efluente da ETE do bairro Romão dos Reis (Tabela 20). A coleta do efluente da ETE foi interrompida em dois períodos devido a uma falha técnica no funcionamento da estação, não havendo produção de efluente.

Tabela 20 – Cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em amostras do RSB e efluente da ETE, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, julho de 2004 a julho de 2005

AMOSTRA	COLETA 1		COLETA 2		COLETA 3		COLETA 4	
	SET/ 2004		JAN/2005		ABR/2005		MAI/2005	
	G ⁽¹⁾	C ⁽²⁾	G ⁽¹⁾	C ⁽²⁾	G ⁽¹⁾	C ⁽²⁾	G ⁽¹⁾	C ⁽²⁾
ETE/RR	5.680	480	3.750	1.000	-(³)	-(³)	-(³)	-(³)
RSB	6,7	6,7	22,5	15	20	0	0	0

NOTAS: (1) *Giardia*/L. (2) *Cryptosporidium*/L. (3) Não houve coleta, pois a ETE não estava funcionando.

Interessante ressaltar o aparecimento de oocistos de *Cryptosporidium* spp. no efluente da ETE-Romão dos Reis, dado que ainda não havia sido observado no monitoramento realizado no período de janeiro de 2003 a janeiro de 2004 (Estudo 1). Embora não se possa afirmar a procedência desse parasita, é um indicativo de contaminação humana, visto que a ETE em questão é de esgotos domésticos. Observa-se que os oocistos de *Cryptosporidium* (MA = 740 oocistos/L) estão presentes no efluente da ETE em menor proporção que os cistos de *Giardia* spp (MA = 4.715 cistos/L). Ainda, referenciando a pesquisa anterior, observamos a ocorrência de cistos de *Giardia* na ETE em todas as amostras analisadas e em elevadas concentrações (Tabelas 9 e 20). Considerando os dados obtidos nos exames de fezes da população animal, bem como do efluente da ETE

em momentos anteriores e dados da qualidade da água bruta do RSB, pode-se inferir que os oocistos de *Cryptosporidium* encontrados na água são, provavelmente, oriundos em maior quantidade da população animal, enquanto os cistos de *Giardia* spp. provêm de ambas as populações, porém destaca-se a maior contribuição da população humana devido à elevada concentração no efluente da ETE.

5.3. Estudo 3: Monitoramento da qualidade microbiológica da água bruta na bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu

Os dados dessa etapa foram coletados no período de janeiro a junho de 2007. Inicialmente, foi realizada uma visita a todas as propriedades investigadas no Estudo 1 para aplicação de questionário e atualização dos dados. Durante o recadastramento, verificou-se a desativação de uma das suinoculturas (Suinocultura 1) e a implementação do tratamento dos dejetos na Suinocultura 2 por meio de lagoas de estabilização.

A pesquisa desenvolvida durante esse período objetivou avaliar a qualidade da água do manancial superficial para diferentes microrganismos. Sendo assim, a qualidade da água foi avaliada mensalmente, nos oito pontos de coleta previamente estudados, por meio da pesquisa de esporos anaeróbios e aeróbios e, quinzenalmente, através da pesquisa de *E. coli*, coliforme totais, estreptococos, enterococos e (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium*. Adicionalmente, foi feita a determinação da turbidez em todas as amostras coletadas e a medição de vazão nos curso d'água pesquisados. Os dados do monitoramento microbiológico da qualidade da água nos sete córregos e no RSB, durante o ano de 2007 encontram-se nas Tabelas 21 a 28.

Tabela 21 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta no Ribeirão RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	17,2	27,8	9,3	6,9	40,0
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	3,91 x 10 ⁴	7,70 x 10 ⁴	4,87 x 10 ³	2,03 x 10 ⁴	51,9
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	3,79 x 10 ³	6,13 x 10 ³	6,1 x 10 ²	1,97 x 10 ³	52,0
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	5,08 x 10 ³	1,75 x 10 ⁴	2,29 x 10 ³	4,48 x 10 ³	88,2
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	4,43 x 10 ³	1,46 x 10 ⁴	1,97 x 10 ³	3,86 x 10 ³	87,1
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	3,87 x 10 ⁵	8,61 x 10 ⁵	2,14 x 10 ⁵	2,36 x 10 ⁵	61,0
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	-	-	ND ⁽⁹⁾	-	-
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	4,56 x 10 ²	1,4 x 10 ³	2,03 x 10 ²	4,71 x 10 ²	103,4
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	4,03 x 10 ²	1,4 x 10 ³	1,01 x 10 ²	5,06 x 10 ²	125,7
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	1,4 x 10	3,0 x 10	ND ⁽⁹⁾	1,26 x 10	89,6
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	1,6 x 10	6,0 x 10	ND ⁽⁹⁾	1,76 x 10	109,7

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 22 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego São Lucas, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	17,7	26,8	8,15	9,32	52,7
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	3,16 x 10 ⁴	9,21 x 10 ⁴	1,33 x 10 ⁴	4,12 x 10 ⁴	130,6
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	2,54 x 10 ³	8,86 x 10 ³	2,00 x 10 ²	4,48 x 10 ³	176,7
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	2,81 x 10 ³	1,66 x 10 ⁴	1,50 x 10 ²	8,83 x 10 ³	314,4
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,84 x 10 ³	8,30 x 10 ³	1,25 x 10 ²	4,31 x 10 ³	233,8
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	1,64 x 10 ⁵	3,00 x 10 ⁵	5,43 x 10 ⁴	1,23 x 10 ⁵	75,3
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	1,05 x 10 ⁴	6,33 x 10 ⁴	ND ⁽⁹⁾	3,39 x 10 ⁴	321,5
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	1,79 x 10 ²	6,40 x 10 ²	1,80 x 10	3,23 x 10 ²	180,2
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	1,30 x 10 ²	3,20 x 10 ²	9,00	1,57 x 10 ²	120,1
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	1,11 x 10	7,60 x 10	ND ⁽⁹⁾	4,11 x 10	369,8
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	7,44 x 10	3,05 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	1,59 x 10 ²	213,7

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 23 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego dos Machados, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	37,3	83,4	10,6	19	51,0
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	4,81 x 10 ⁴	1,01 x 10 ⁵	7,59 x 10 ³	3,51 x 10 ⁴	72,9
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	1,87 x 10 ³	6,81 x 10 ³	4,10 x 10 ²	1,82 x 10 ³	97,2
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	2,77 x 10 ³	1,10 x 10 ⁴	1,20 x 10 ²	3,54 x 10 ³	127,8
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,66 x 10 ³	5,50 x 10 ³	9,60 x 10	1,99 x 10 ³	119,8
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	3,62 x 10 ⁵	8,23 x 10 ⁵	1,44 x 10 ⁵	2,46 x 10 ⁵	67,8
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	1,68 x 10 ⁴	1,01 x 10 ⁵	ND ⁽⁹⁾	4,12 x 10 ⁴	244,9
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	9,05 x 10	2,20 x 10 ²	1,00 x 10	7,67 x 10	84,8
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	6,38x 10	1,14 x 10 ²	1,00 x 10	5,56 x 10	87,2
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	2,52 x 10	1,84 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	5,73 x 10	227,7
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	3,57 x 10	1,38 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	5,21 x 10	145,8

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 24 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Santa Catarina, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	13,1	17,9	9,8	3,2	24,3
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	2,32 x 10 ⁴	7,38 x 10 ⁴	8,82 x 10 ⁴	1,93 x 10 ⁴	83,1
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	1,24 x 10 ³	5,61 x 10 ³	1,00 x 10 ²	1,70 x 10 ³	137,7
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,15 x 10 ³	4,00 x 10 ³	1,90 x 10 ³	1,28 x 10 ³	111,0
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	6,74 x 10 ²	3,20 x 10 ³	9,50 x 10	9,24 x 10 ²	137,2
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	2,04 x 10 ⁵	3,32 x 10 ⁵	2,05 x 10 ⁴	1,10 x 10 ⁵	53,7
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	-	-	ND ⁽⁹⁾	-	-
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	5,83 x 10	1,21 x 10 ²	8,00 x 10	4,89 x 10	83,9
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	2,93 x 10	6,03 x 10	ND ⁽⁹⁾	2,45 x 10	83,4
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	7,3 x 10 ⁻¹	7,30	ND(9)	2,31	316,2
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	4,40	1,67 x 10	ND(9)	6,13	139,4

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 25 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Paraíso, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	27,6	140	7,03	40,6	146,9
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	3,07 x 10 ⁴	1,05 x 10 ⁵	7,64 x 10 ³	3,36 x 10 ⁴	109,3
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	4,87 x 10 ²	2,22 x 10 ³	1,00 x 10 ²	6,41 x 10 ²	131,5
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,15 x 10 ³	7,30 x 10 ³	ND ⁽⁹⁾	2,25 x 10 ³	196,3
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	6,73 x 10 ²	4,87 x 10 ³	ND ⁽⁹⁾	1,50 x 10 ³	223,2
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	2,54 x 10 ⁵	4,24 x 10 ⁵	1,39 x 10 ⁵	1,30 x 10 ⁵	51,2
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	-	-	ND ⁽⁹⁾	-	-
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	1,57 x 10 ²	3,60 x 10 ²	2,30 x 10	1,54 x 10 ²	97,7
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	9,22 x 10	3,20 x 10 ²	1,33 x 10	1,17 x 10 ²	127,0
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	1,44 x 10	8,08 x 10	ND ⁽⁹⁾	2,62 x 10	182,1
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	3,01 x 10	1,62 10 ²	ND ⁽⁹⁾	5,00 x 10	166,5

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 26 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Palmital, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	9	12	17	7,53	3,38	28,6
Coliformes totais ⁽⁵⁾	9	1,36 x 10 ⁴	2,70 x 10 ⁴	2,16 x 10 ³	9,36 x 10 ³	67,1
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	9	3,81 x 10 ²	2,13 x 10 ³	1,00 x 10 ²	6,63 x 10 ²	174,0
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	9	3,91 x 10 ²	9,85 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	3,65 x 10 ²	93,2
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	9	1,86 x 10 ²	4,93 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	1,81 x 10 ²	97,3
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	5	9,82 x 10 ⁴	1,60 x 10 ⁵	2,60 x 10 ⁴	6,11 x 10 ⁴	62,3
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	5	-	-	ND ⁽⁹⁾	-	-
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	5	15,65 x 10	2,6 x 10 ²	1,20 x 10	5,83	37,3
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	5	9,50	1,30 x 10	3,50	5,22	54,9
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	9	-	-	ND ⁽⁹⁾	-	-
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	9	3,45	1,0x 10	ND ⁽⁹⁾	4,39	127,5

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) número de amostras. (3) médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 27 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego Antuérpia, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	94,4	594	8,90	179	189,5
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	4,28 x 10 ⁴	1,41 x 10 ⁵	1,78 x 10 ⁴	3,76 x 10 ⁴	87,7
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	2,71 x 10 ³	6,27 x 10 ³	1,10 x 10 ³	1,65 x 10 ³	60,8
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,34 x 10 ³	3,50 x 10 ³	8,00 x 10 ¹	1,02 x 10 ³	76,0
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,03 x 10 ³	2,29 x 10 ³	6,40 x 10	8,15 x 10 ²	78,8
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	3,08 x 10 ⁵	4,00 x 10 ⁵	9,20 x 10 ⁴	1,13 x 10 ⁵	36,6
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	-	-	ND ⁽⁹⁾	-	-
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	1,19 x 10 ²	2,83 x 10 ²	2,70 x 10	9,62 x 10	80,6
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	6,83 x 10	1,41 x 10 ²	2,12 x 10	4,45 x 10	65,1
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	3,06 x 10	2,00 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	6,17 x 10	201,7
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	3,37 x 10	1,50 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	5,65 x 10	167,8

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Tabela 28 - Caracterização microbiológica e turbidez da água bruta do Córrego do Engenho, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO ⁽¹⁾	n ⁽²⁾	MÉDIA ⁽³⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO	CV (%)
Turbidez ⁽⁴⁾	10	36,2	135	5,87	39,6	109,2
Coliformes totais ⁽⁵⁾	10	5,61 x 10 ⁴	1,99 x 10 ⁵	1,15 x 10 ⁴	6,08 x 10 ⁴	108,5
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁵⁾	10	2,18 x 10 ³	3,97 x 10 ³	1,19 x 10 ³	9,70 x 10 ²	44,5
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,29 x 10 ³	2,10 x 10 ³	2,40 x 10 ²	6,27 x 10 ²	48,5
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁶⁾	10	1,15 x 10 ³	1,90 x 10 ³	1,92 x 10 ²	6,16 x 10 ²	53,6
Esporos aeróbios ⁽⁶⁾	6	2,49 x 10 ⁵	3,32 x 10 ⁵	6,15 x 10 ⁴	9,65 x 10 ⁴	38,8
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁶⁾	6	2,77 x 10 ⁴	1,66 x 10 ⁵	ND ⁽⁹⁾	6,78 x 10 ⁴	244,9
Esporos anaeróbios ⁽⁶⁾	6	3,08 x 10 ²	7,93 x 10 ²	9,13 x 10	3,27 x 10 ²	106,0
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁶⁾	6	2,05 x 10 ²	5,94 x 10 ²	4,56 x 10	2,18 x 10 ²	106,4
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁷⁾	10	1,21 x 10	7,14 x 10	ND ⁽⁹⁾	2,34 x 10	192,7
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁸⁾	10	4,66 x 10	2,86 x 10 ²	ND ⁽⁹⁾	8,61 x 10	185,0

NOTAS: (1) Amostra coletada no ponto definido (Figura 3a). (2) Número de amostras. (3) Médias aritméticas. (4) uT. (5) NMP/100 mL. (6) UFC/100mL. (7) cistos/L. (8) oocistos/L. (9) Não foram identificadas amostras positivas para o parâmetro.

Com relação ao parâmetro turbidez, a análise de variância revelou diferença estatisticamente significativa ($t = 22,63$; $p < 0,01$), sendo que ‘Córrego Santa Catarina’ e ‘Córrego Palmital’ foram as sub-bacias que mais se diferenciaram, em média, das demais, apresentando os menores valores 13,1 uT e 12,2 uT, respectivamente. Embora sem se destacarem das demais, ‘Córrego Antuérpia’ e ‘Córrego do Engenho’ apresentaram as maiores médias de turbidez 94,42 uT e 36,23 uT, respectivamente (Tabelas 21 a 28).

Para coliforme total, a análise de variância entre as sub-bacias foi significativa ($t = 16,00$; $p < 0,05$), porém os valores médios não foram diferentes, destacamos o ‘Córrego do Engenho’ que apresentou o maior valor médio ($5,61 \times 10^4$ NMP/100 mL). O parâmetro *Escherichia coli* também apresentou resultado significativo na análise de variância ($t = 38,69$; $p < 0,01$), sendo que as médias do ‘Córrego Paraíso’ ($4,87 \times 10^2$ NMP/100 mL) e ‘Córrego Palmital’ ($3,81 \times 10^2$ NMP/100 mL) foram as que mais se diferiram das demais, bem como ‘Ribeirão São Bartolomeu’, com o maior valor médio ($3,79 \times 10^3$ NMP/100 mL). Sendo a *Escherichia coli* considerada o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos o resultado observado era esperado uma vez que, o RSB recebe todo o aporte hídrico dos demais cursos d’água e, à montante do ponto de coleta, situa-se a descarga do efluente da ETE do bairro Romão dos Reis.

Resultado semelhante foi observado com relação aos *Streptococcus* spp. e *Enterococos* spp. sendo que o RSB apresentou as maiores médias $6,81 \times 10^3$ e $1,10 \times 10^4$ UFC/100mL, respectivamente, embora essas médias só tenham sido diferentes daquelas verificadas para o ‘Córrego Santa Catarina’, ‘Córrego Paraíso’ e

‘Córrego Palmital’, no caso de estreptococos e ‘Córrego Paraíso’ e ‘Córrego Palmital’, para enterococos.

Com relação aos esporos anaeróbios, esses foram os parâmetros que apresentaram os maiores valores nas sub-bacias (acima de 10^5 UFC/100mL). A análise de variância foi significativa ($t = 15,61$; $p < 0,05$), entretanto, não foram identificadas diferenças entre as médias. Os *Bacillus* spp. raramente foram encontrados sendo identificados em apenas três amostras ao longo de todo o estudo nas seguintes sub-bacias: ‘Córrego São Lucas’, ‘Córrego dos Machados’ e ‘Córrego do Engenho’. Conforme descrito na literatura, os *Bacillus* spp. raramente são encontrados em ambientes aquáticos e por isso o uso desses organismos como indicadores fica limitado, sendo então mais utilizado o parâmetro esporos aeróbios (GORDY; OWEN, 1999; NIEMINSKI et al., 2000).

Para os parâmetros esporos anaeróbios e *Clostridium perfringens*, a análise de variância resultou significativa ($t = 19,94$; $p < 0,01$ e $t = 20,66$; $p < 0,01$, respectivamente), sendo que para ambos, o ‘Ribeirão São Bartolomeu’ apresentou médias diferentes ($4,56 \times 10^2$ UFC/100mL e $4,03 \times 10^2$ UFC/100mL, respectivamente) apenas quando comparado ao ‘Córrego Palmital’ ($1,56 \times 10$ UFC/100mL e $5,7$ UFC/100mL, respectivamente).

A análise de variância entre as sub-bacias para os parâmetros *Giardia* e *Cryptosporidium* não revelaram resultados significativos ($t = 11,21$; $p > 0,05$ e $t = 7,85$; $p > 0,05$). Entretanto, destacamos as sub-bacias ‘Córrego Santa Catarina’ e ‘Córrego Palmital’ que apresentaram as menores médias de protozoários: 0,73 cistol/L e 4,40 oocistos/L, para a primeira e 0,0 cistos/L e 3,44 oocistos/L, para a segunda sub-bacia.

Foram realizadas análises de correlação entre os parâmetros microbiológicos e turbidez para a bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu como um todo. Os resultados estão apresentados na Tabela 29.

Tabela 29 – Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre parâmetros microbiológicas e turbidez, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007

continua

PARÂMETROS	NÚMERO DE PARES	COEFICIENTE SPEARMAN (rs)	VALOR DE p ⁽¹⁾
Turbidez x coliformes	80	0,132	0,12
Turbidez x <i>E.coli</i>	80	0,257	0,01*
Turbidez x <i>Giardia</i> spp.	80	0,299	0,004*
Turbidez x <i>Cryptosporidium</i> spp.	80	0,236	0,02*
Turbidez x <i>Enterococcus</i>	80	0,099	0,19
Turbidez x <i>Streptococcus</i>	80	0,077	0,25
Turbidez x esporos aeróbios	47	0,430	0,002*
Turbidez x <i>Bacillus</i> spp.	47	0,192	0,10
Turbidez x esporos anaeróbios	47	0,273	0,03*
Turbidez x <i>C. perfringens</i>	47	0,218	0,07
Coliformes x <i>E. coli</i>	80	0,618	0,000*
Coliformes x <i>Giardia</i> spp.	80	0,135	0,11
Coliformes x <i>Cryptosporidium</i> spp.	80	0,19	0,05
Coliformes x <i>Enterococcus</i>	80	0,419	0,0001*
Coliformes x <i>Streptococcus</i>	80	0,390	0,0003*
Coliformes x esporos aeróbios	47	0,399	0,003*
Coliformes x <i>Bacillus</i> spp.	47	0,236	0,03*
Coliformes x esporos anaeróbios	47	0,084	0,28
Coliformes x <i>C. perfringens</i>	47	0,100	0,25
<i>E.coli</i> x <i>Giardia</i> spp.	80	0,174	0,06
<i>E.coli</i> x <i>Cryptosporidium</i> spp.	80	0,125	0,14
<i>E.coli</i> x <i>Enterococcus</i>	80	0,491	0,000*
<i>E.coli</i> x <i>Streptococcus</i>	80	0,487	0,000*
<i>E.coli</i> x esporos aeróbios	47	0,256	0,04*
<i>E.coli</i> x <i>Bacillus</i> spp.	47	0,119	0,21
<i>E.coli</i> x esporos anaeróbios	47	0,440	0,002*
<i>E.coli</i> x <i>C. perfringens</i>	47	0,477	0,0006*
<i>Giardia</i> spp. x <i>Cryptosporidium</i> spp	80	0,436	0,0001*
<i>Giardia</i> spp. x <i>Enterococcus</i>	80	0,098	0,19
<i>Giardia</i> spp. x <i>Streptococcus</i>	80	0,090	0,21
<i>Giardia</i> spp. X esporos aeróbios	47	0,178	0,11
<i>Giardia</i> spp. x <i>Bacillus</i> spp.	47	-0,190	0,10

NOTA: (1) * Resultado da análise de correlação significativo ao nível de significância de 5%.

Tabela 29 – Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre parâmetros microbiológicas e turbidez, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007
conclusão

PARÂMETROS	NÚMERO DE PARES	COEFICIENTE SPEARMAN (rs)	VALOR DE p ⁽¹⁾
<i>Giardia</i> spp. x esporos anaeróbios	47	0,526	0,0002*
<i>Giardia</i> spp. x <i>C. perfringens</i>	47	0,422	0,002*
<i>Cryptosporidium</i> spp, x <i>Enterococcus</i>	80	0,007	0,47
<i>Cryptosporidium</i> spp, x <i>Streptococcus</i>	80	-0,019	0,43
<i>Cryptosporidium</i> spp, x esporos aeróbios	47	0,181	0,11
<i>Cryptosporidium</i> spp x <i>Bacillus</i> spp.	47	-0,090	0,27
<i>Cryptosporidium</i> spp. x esporos anaeróbios	47	0,351	0,009*
<i>Cryptosporidium</i> spp. x <i>C. perfringens</i>	47	0,272	0,03*
<i>Streptococcus</i> x <i>Enterococcus</i>	80	0,922	0,0000*
<i>Streptococcus</i> x esporos aeróbios	47	0,324	0,01*
<i>Streptococcus</i> x <i>Bacillus</i> spp.	47	0,236	0,05
<i>Streptococcus</i> . x esporos anaeróbios	47	0,198	0,09
<i>Streptococcus</i> x <i>C. perfringens</i>	47	0,346	0,009*
<i>Enterococcus</i> x esporos aeróbios	47	0,342	0,01*
<i>Enterococcus</i> x <i>Bacillus</i> spp.	47	0,284	0,03*
<i>Enterococcus</i> x esporos anaeróbios	47	0,343	0,01*
<i>Enterococcus</i> . x <i>C. perfringens</i>	47	0,484	0,0005*
Esporos aeróbios x <i>Bacillus</i> spp.	47	0,211	0,08
Esporos aeróbios x esporos anaeróbios	47	0,132	0,19
Esporos aeróbios x <i>C. perfringens</i>	47	0,269	0,03*
<i>Bacillus</i> spp x esporos anaeróbios	47	-0,114	0,22
<i>Bacillus</i> spp x <i>C. perfringens</i>	47	0,05	0,36
Esporos anaeróbios x <i>C. perfringens</i>	47	0,89	0,0000*

NOTA: (1) * Resultado da análise de correlação significativo ao nível de significância de 5%.

Identificamos correlações significativas entre ambos protozoários ($p < 0,01$) e entre protozoários e turbidez (*Giardia*: $p < 0,01$; *Cryptosporidium*: $p = 0,02$), esporos anaeróbios (*Giardia*: $p < 0,01$; *Cryptosporidium*: $p < 0,01$) e *Clostridium perfringens* (*Giardia*: $p < 0,01$; *Cryptosporidium*: $p = 0,03$). Não foram identificadas correlações significativas ($p > 0,05$) entre protozoários e coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, esporos aeróbios e *Bacillus* spp.

Altherholt et al. (1998) também identificaram correlação positiva entre *Cryptosporidium* spp. e *Clostridium perfringens*. O grupo das bactérias anaeróbias, especificamente o *Clostridium perfringens*, têm sido bastante estudados como indicadores de contaminação ambiental mais remota. (SCHIJVEN, et al., 2002; BASTOS et al., 2004; SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006).

Com relação aos indicadores bacterianos de contaminação fecal (coliformes totais, *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Streptococcus*), não observamos correlação com a ocorrência de protozoários na água. Esse resultado é interessante e retorna a discussão sobre as limitações desses grupos bacterianos que reconhecidamente, são insuficientes para testar a ausência de protozoários na água (NIEMINSKI; ONGERTH, 1995, GAMBA et al., 2000).

Outro dado interessante e que pode ser observado na Tabela 29 foi a existência de associação estatisticamente significativa entre ambos protozoários e a turbidez. Conforme descrito no trabalho de Altherholt et al. (1998), os períodos chuvosos aumentaram as concentrações de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. na água bruta, primariamente por afetarem a turbidez, através da ressuspensão dos sedimentos ou suspensão de solo e matéria fecal antiga.

Ainda vale ressaltar que a maioria dos casos de surtos de criptosporidiose nos EUA esteve acompanhada de picos de turbidez na água filtrada (SOLO-GABRIELE; NEUMEISTER, 1996). Embora nosso estudo não tenha avaliado a presença de protozoários na água tratada, a qualidade da água bruta é fator que interfere no tratamento da água, inclusive determinado atenção e cuidados diferenciados, uma vez que eventuais falhas nas etapas de tratamento podem implicar na ocorrência de organismos patogênicos no efluente final de estações de tratamento.

A Tabela 30 apresenta os dados de vazão dos córregos das sub-bacias medida em dois momentos desse estudo, março e junho de 2007. Observamos diferenças de vazão entre os córregos em função das características de cada sub-bacia. A partir desses dados, foram feitas análises de correlação entre vazão e parâmetros microbiológicos e turbidez, não tendo sido identificada nenhuma correlação significativa ($p > 0,05$), conforme Tabela 31. Altherholt et al. (1998) também não encontraram associação entre a vazão e a ocorrência de protozoários na água bruta.

No presente estudo, como a vazão foi medida em apenas dois momentos, a

inexistência de associação pode não representar a realidade, necessitando a ampliação do banco de dados com maior monitoramento a fim de melhor compreender a relação entre esses parâmetros.

Tabela 30 – Dados de vazão (L/s) segundo os córregos correspondentes às sub-bacias, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, março e junho de 2007

SUB-BACIAS	VAZÃO (L/s) Março 2007	VAZÃO (L/s) Junho 2007
Córrego São Lucas	34,91	17,85
Córrego dos Machados	5,32	1,81
Córrego Santa Catarina	103,23	39,48
Córrego Paraíso	8,14	9,55
Córrego Palmital	33,29	28,85
Córrego Antuérpia	23,22	11,24
Córrego Engenho	12,60	9,65
Ribeirão São Bartolomeu	350,38	299,89

A Tabela 31 também apresenta os resultados das análises de correlação entre a pluviosidade média da semana da coleta das amostras e parâmetros microbiológicos e turbidez. Observamos a existência de correlações significativas para *Giardia* spp. ($p = 0,03$), *Cryptosporidium* spp. ($p < 0,01$), *Streptococcus* spp. ($p = 0,02$), *Enterococos* spp. ($p = 0,02$) e esporos anaeróbios ($p = 0,04$).

A associação entre o parâmetro pluviosidade e a ocorrência de protozoários na água é destacada em diversos trabalhos (ATHERHOLT et al., 1998; HELLER, 2003; DAVIES et al., 2004). Altherholt et al. (1998) ainda destacam que a pluviosidade, além de ser altamente correlacionada à ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. na água, é um parâmetro capaz de influenciar outros aspectos como a vazão e turbidez.

Tabela 31 – Resultados das análises de correlação pelo Teste de Spearman (rs) entre vazão, pluviosidade, parâmetros microbiológicas e turbidez, bacia hidrográfica RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETROS	NÚMERO DE PARES	COEFICIENTE SPEARMAN (rs)	VALOR DE p ⁽¹⁾
Vazão			
Turbidez	16	-0,579	0,01
Coliformes totais	16	-0,159	0,27
<i>Escherichia coli</i>	16	0,421	0,05
<i>Giardia</i> spp.	16	-0,086	0,37
<i>Cryptosporidium</i> spp.	16	0,100	0,35
<i>Streptococcus</i> spp.	16	0,115	0,33
<i>Enterococcus</i> spp.	16	0,177	0,25
Esporos aeróbios	16	-0,332	0,100
<i>Bacillus</i> spp.	16	-	-
Esporos anaeróbios	16	0,062	0,41
<i>Clostridium perfringens</i>	16	0,100	0,35
Pluviosidade			
Turbidez	80	-0,058	0,30
Coliformes totais	80	0,064	0,28
<i>Escherichia coli</i>	80	-0,005	0,48
<i>Giardia</i> spp.	80	0,210	0,03*
<i>Cryptosporidium</i> spp.	80	0,353	0,0008*
<i>Streptococcus</i> spp.	80	-0,236	0,02*
<i>Enterococcus</i> spp.	80	-0,229	0,02*
Esporos aeróbios	80	-0,212	0,07
<i>Bacillus</i> spp.	80	-0,238	0,05
Esporos anaeróbios	80	0,251	0,04*
<i>Clostridium perfringens</i>	80	0,002	0,49

NOTA: (1) * Resultado da análise de correlação significativo ao nível de significância de 5%.

De forma a reforçar a influência do parâmetro pluviosidade na ocorrência de protozoários na água, foram comparadas as médias considerando dois períodos distintos, Período 1 e Período 2, o primeiro referente às coletas de janeiro a março de 2007 e o segundo, de abril a junho de 2007. Ambos os períodos, de fato, demonstraram valores diferentes, sendo a média da pluviosidade do primeiro superior (88,9 mm) à do segundo (5,8 mm), sendo a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$), conforme Tabela 32.

Tabela 32 – Valores de p, segundo análise pelo teste de Wilcoxon, para comparação entre as médias de pluviosidade, turbidez e parâmetros microbiológico, bacia hidrográfica do RSB, Viçosa-MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETROS	NÚMERO DE OBSERVAÇÕES	MÉDIAS ARITMÉTICAS		VALOR DE p ⁽¹⁾
		PERÍODO 1	PERÍODO 2	
Pluviosidade ⁽²⁾	40	88,9	5,8	< 0,01*
Turbidez ⁽³⁾	40	39,8	24,1	0,31
Coliformes totais ⁽⁴⁾	40	3,75 x 10 ⁴	3,39 x 10 ⁴	0,18
<i>Escherichia coli</i> ⁽⁴⁾	40	1,90 x 10 ³	1,80 x 10 ³	0,32
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁵⁾	40	22,57	4,48	0,0004*
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁶⁾	40	52,07	9,56	0,00001*
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽⁷⁾	40	1,70 x 10 ³	2,27 x 10 ³	0,004*
<i>Enterococos</i> spp. ⁽⁷⁾	40	1,09 x 10 ³	1,70 x 10 ³	0,004*
Esporos aeróbios ⁽⁷⁾	23	1,36 x 10 ⁵	2,48 x 10 ⁵	0,02*
<i>Bacillus</i> spp. ⁽⁷⁾	23	0,0	1,38 x 10 ³	0,042*
Esporos anaeróbios ⁽⁷⁾	23	2,56 x 10 ²	9,98 x 10	0,02*
<i>Clostridium perfringens</i> ⁽⁷⁾	23	1,59 x 10 ²	8,56 x 10	0,37

NOTA: (1) * Resultado da análise de correlação significativo ao nível de significância de 5%. (2) mm. (3) uT. (4) NMP/100 mL. (5) cistos/L. (6) oocistos/L. (7) UFC/100mL.

As médias de protozoários resultaram diferentes entre os dois períodos, sendo que o primeiro apresentou maiores valores (22,57 cistos/L e 52,07 oocistos/L) que o segundo (4,48 cistos/L e 9,56 oocistos/L), sendo as diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,01$). Esses resultados reiteram a interferência da pluviosidade na ocorrência de (oo)cistos de protozoários na água, conforme já relatado por outros autores (ATHERHOLT et al., 1998; HELLER, 2003; DAVIES et al., 2004).

As análises microbiológicas das amostras do efluente da Suinocultura 2 (sub bacia ‘Córrego Antuérpia’) e da ETE-Romão dos Reis encontram-se nas Tabelas 33.

Observamos que o efluente da Suinocultura 2 apresentou qualidade microbiológica relativamente boa, não foram identificados (oo)cistos de protozoários em nenhuma amostra e a pesquisa de *Streptococcus* spp. *Enterococos* spp. revelou valores muito baixos quando comparados ao efluente da ETE-Romão dos Reis. Esse resultado pode ser atribuído à introdução do tratamento dos dejetos da Suinocultura 2 com lagoas de estabilização, as quais apresentam excelente desempenho na remoção de organismos patogênicos inclusive protozoários podendo atingir até 4 unidades logarítmicas de remoção para protozoários e 6 para bactérias (MARA; CAIRNCROSS, 1989). Importante salientar a evolução dessa propriedade na redução do potencial poluidor após a implantação do tratamento dos dejetos. Durante a pesquisa realizada em 2003 e 2004, quando o tratamento dos dejetos ainda era inexistente, foram encontradas concentrações de protozoários na ordem de 10³ cistos /L para *Giardia* spp. e 10² oocistos /L para *Cryptosporidium* spp. (Tabela 9).

Tabela 33 - Caracterização microbiológica do efluente da Suinocultura 2 e da ETE-Romão dos Reis, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa - MG, janeiro a junho de 2007

PARÂMETRO	n ⁽¹⁾	MÉDIA ⁽²⁾	VALOR MÁXIMO	VALOR MÍNIMO	DESVIO PADRÃO
Suinocultura 2					
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽³⁾	10	10.676	43.000	2.480	138.348
<i>Enterococos</i> spp. ⁽³⁾	10	4.196	10.075	1.240	140.467
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁴⁾	10	-	ND ⁽⁶⁾	ND ⁽⁶⁾	-
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁵⁾	10	-	ND ⁽⁶⁾	ND ⁽⁶⁾	-
ETE-Romão dos Reis					
<i>Streptococcus</i> spp. ⁽³⁾	10	448.640	616.000	358.000	83.915
<i>Enterococos</i> spp. ⁽³⁾	10	364.590	516.000	242.000	79.719
<i>Cryptosporidium</i> spp. ⁽⁴⁾	10	300	720	ND ⁽⁶⁾	241
<i>Giardia</i> spp. ⁽⁵⁾	10	34.445	58.450	20.040	11.425

NOTAS: (1) Número de amostras; (2) médias aritméticas para os parâmetros bacteriológicos; (3) NMP/100 mL; (4) oocistos/L; (5) cistos/L; (6) Não detectado.

Os resultados encontrados no efluente da ETE-Romão dos Reis reafirmam a grande contribuição da população humana na eliminação de cistos de *Giardia* spp. e, ao mesmo tempo, realça a presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. no esgoto doméstico. Esse dado endossa o resultado obtido na pesquisa anterior e sugere a presença de pessoas eliminando oocistos de *Cryptosporidium* spp., embora esse protozoário não tenha sido identificado no grupo populacional pesquisado. A elevada presença de organismos indicadores de contaminação fecal e também de patogênicos ilustram a baixa eficiência de remoção do tratamento existente na ETE-Romão dos Reis (tanque séptico-filtro anaeróbio), na ordem de 0-1 log, para todos os grupos de patogênicos (bactérias, vírus, protozoários e helmintos), conforme descrito por Mara e Cairncross (1989); von Sperling (2003).

Observamos concentrações mais elevadas de *Streptococcus* spp e *Enterococos* spp no efluente da ETE-Romão dos Reis quando comparado ao efluente da suinocultura após o tratamento. Entretanto vale ressaltar que os processos de tratamento empregado nessas unidades são completamente distintos.

O Quadro 11 sintetiza os principais resultados obtidos para os três estudos desenvolvidos na bacia hidrográfica do RSB entre o período de 2003 a 2007.

Quadro 11 – Resumo dos principais resultados segundo o estudo, bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa – MG, 2003-2007

ESTUDO	PERÍODO	AMOSTRAS COLETADAS	RESULTADOS
ESTUDO 1	Janeiro de 2003 a janeiro de 2004	Fezes dos animais	Prevalência média de propriedades positivas (bovino) foi de 36,4% para <i>Giardia</i> spp. e 18,0% para <i>Cryptosporidium</i> spp.
		Esgoto	ETE - Cistos de <i>Giardia</i> spp. na ordem de $10^4/L$ e ausência de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. Suinoculturas - cistos de <i>Giardia</i> spp. na ordem de $10^3/L$ e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. $10^2/L$.
		Água	Média aritmética de 20,2 e 15,3 (oo)cistos/L para <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> , respectivamente
ESTUDO 2	Julho de 2004 a junho de 2005	Fezes de crianças com menos de 10 anos	Prevalência para <i>Giardia</i> spp. 6,1% e ausência de <i>Cryptosporidium</i> spp.
		Esgoto	ETE - Cistos de <i>Giardia</i> spp. na ordem de $10^4/L$ e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> na ordem de $10^2/L$.
		Água Bruta	Média aritmética de 12,3 e 5,25 (oo)cistos/L para <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> , respectivamente.
ESTUDO 3	Janeiro a junho de 2007	Esgoto	ETE - Cistos de <i>Giardia</i> spp. na ordem de $10^4/L$ e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. na ordem de $10^2/L$. Suinocultura – ausência de cistos de <i>Giardia</i> spp. e oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp.
		Água	Correlação positiva entre protozoários na água, pluviosidade e turbidez ($p < 0,01$) Correlação positiva entre <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> e esporos anaeróbios e <i>Clostridium perfringens</i> ($p < 0,05$).

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O presente estudo revelou informações importantes relativas à qualidade parasitológica da água do Ribeirão São Bartolomeu. Encontramos elevadas concentrações de *Giardia* e *Cryptosporidium*, na água bruta.

A ocorrência de protozoários no manancial superficial sofreu influência da turbidez e da pluviosidade sendo esse último, o parâmetro que revelou melhor correlação com *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

Com relação aos demais parâmetros microbiológicos, observamos correlação positiva entre a ocorrência de protozoários apenas para os esporos anaeróbios e *Clostridium perfringens*. Essa observação confirma a limitação do grupo coliforme para testar a ausência de protozoários na água e aponta a adequação das bactérias anaeróbias e *Clostridium perfringens* como possíveis indicadores da presença de protozoários. Entretanto, ressaltamos a necessidade de estudos que envolvam a continuidade do monitoramento, com o intuito de aprofundar o conhecimento sobre a dinâmica dos protozoários na bacia hidrográfica e confirmar as correlações encontradas.

As sub-bacias integrantes da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu apresentaram contaminação por cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*, a qual contribui para o deterioramento da qualidade parasitológica da água do Ribeirão São Bartolomeu. Esse achado sinaliza um potencial risco à saúde humana, uma vez que esse ribeirão constitui um dos mananciais de abastecimento de água bruta para a população do município de Viçosa, além de ser o manancial de abastecimento da Universidade Federal de Viçosa.

A presença de protozoários no manancial utilizado para captação de água para abastecimento humano aponta para a necessidade de rigor (perspectiva de risco aceitável) nas estações de tratamento de água de forma a remover os (oo)cistos que inevitavelmente chegam com a água bruta. Assim, o monitoramento da turbidez da água tratada deve ser contínuo, atentando para o aumento dos níveis de protozoários nos períodos de maior pluviosidade.

A existência de explorações animais nas sub-bacias contribuiu, inegavelmente, para a contaminação da água superficial das mesmas, uma vez que encontramos prevalências médias elevadas de propriedades com animais positivos para *Giardia* e *Cryptosporidium*. Observamos ainda correlação significativa ($p < 0,10$) entre o número de animais (bovinos, caprinos e suínos) e a ocorrência de protozoários na água das diferentes sub-bacias.

Os resultados encontrados na população animal confirmam a possibilidade de eliminação de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* por diferentes espécies animais e o potencial risco de contaminação de mananciais superficiais, quando da inexistência de tratamento dos dejetos. Aparentemente, os oocistos de *Cryptosporidium* encontrados na água parecem ser oriundos da população animal, uma vez que não foi evidenciado esse protozoário na população humana e as concentrações desse parasita no efluente da ETE-Romão dos Reis estiveram em menor proporção do que os cistos de *Giardia* spp.

Entretanto, como não foi realizada a caracterização molecular dos isolados clínicos e ambientais, por não integrar os objetivos desse estudo, não podemos aprofundar na suposição acima. Sendo assim, apontamos a necessidade de estudos de biologia molecular, principalmente a caracterização molecular dos (oo)cistos encontrados, visando o conhecimento dos principais genótipos que ocorrem na região. E ainda, estudos que contribuam para a melhor compreensão da participação das diferentes espécie de animais (domésticos e silvestres) na contaminação dos mananciais superficiais.

A existência de correlação negativa entre a ocorrência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. e a presença de mata/capoeira, embora não estatisticamente significativa ($p > 0,05$), confirma a necessidade de ações/intervenções em prol da preservação das áreas de bacias hidrográficas, de forma a minimizar a contaminação dos

cursos d'água. Essa recomendação se baliza na constatação da baixa ocorrência de microrganismos na sub-bacia 'Córrego Santa Catarina', onde se localiza uma área de preservação ambiental.

Nesse sentido, ressaltamos a necessidade da preservação da mata ciliar, regulamentada pelo Código Florestal Brasileiro (Lei Federal n.º4.771/65) e a imediata recuperação das áreas degradadas. Acrescentamos, ainda, a necessidade de impedir o acesso dos animais de exploração ao curso d'água, de forma a reduzir a contaminação.

O tratamento dos dejetos animais também aparece como uma solução viável para redução do potencial poluidor, confirmado pelos resultados observados na Suinocultura 2 antes e após a implementação do tratamento.

Essas informações são significativas para o balizamento de políticas públicas relativas às formas de ocupação do solo das bacias de contribuição dos mananciais de abastecimento de água para consumo humano, de forma a controlar e minimizar o deterioramento da qualidade da água, implicando na redução ou prevenção de potenciais riscos de transmissão de doenças às populações consumidoras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDOM, J.E.; CHAGLA, A.H. Recovery of *Cryptosporidium* oocysts from water by membrane filter dissolution method. *Letters Applied Microbiology*, v.20, p.186-187, 1995.
- ALLEN, M.J.; CLANCY, J.L.; RICE, E.W. The plain, hard truth about pathogen monitoring. *Jour. AWWA*, v.92, n.9, p.64-76, 2000.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. American Water Works Association, Water Environment Federation. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20 th. ed. Washington, 1998.
- ANDRADE R.C. Remoção de organismos patogênicos sedimentáveis, helmintos e protozoários, em lagoas de estabilização. Viçosa, Minas Gerais. 2007. 45 f. Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- ATHERHOLT, T.B.; Le CHEVALLIER, M.W.; NORTON, W.D.; ROSEN, J. Effect of rainfall on Giardia and Crypto. *Journal of the American Water Works Association*, v.90, n.9, p.66-80, 1998.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. BioEstat 2.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém/Brasília: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, 2000. 272p.
- AZEVEDO NETTO, J.M.; FERNADEZ, M.F.; ARAUJO, A. Manual de Hidráulica. 8.ed. São Paulo:Edgard Blucher, 1998.
- BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L.E. et al. Coliformes como indicadores da qualidade da água. Alcance e limitações. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27, 2000, Porto Alegre. *Anais...* Rio de Janeiro:ABES, 2000.
- BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA, P.D.; NASCIMENTO, L. E., CARVALHO, G.R.M.; SILVA, C. V. Coliformes como indicadores da qualidade da água. Alcance e limitações. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL, 27, 2000, Porto Alegre. *Anais...* Rio de Janeiro: AIDIS, 2000 (anais eletrônicos).

BASTOS, R.K.X.; BEVILACQUA, P.D.; SILVA, C.A.B.; DORNELAS, F.L.; ASSUNÇÃO, F.A.L.; RIOS, E.N. Tratamento de esgotos sanitários e usos múltiplos de efluentes. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.9 (Suplemento), p.164-170, 2005.

BASTOS, R. K. X.; HELLER, L; VIEIRA, M.B.C.M.; BRITO, L.L. A; BEVILACQUA, P. D.; NASCIMENTO, L. E. GIARDIA CYSTS AND CRYPTOSPORIDIUM OOCYSTS DYNAMICS IN SOUTHEAST BRAZIL. Occurrence in surface water and removal in water treatment processes. *Water Science and Technology*. v. 14, n. 2, p. 15 -22, 2004.

BASTOS, R.K.X.; HELLER, L; FORMAGGIA, D.M.E.; AMORIM, L C; SANCHEZ, P S.; BEVILACQUA, P.D.; COSTA, S. S.; CÂNCIO J. A.. Revisão da Portaria 36 GM/90. Premissas e princípios norteadores. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 21, 2001, João Pessoa. *Anais...* Rio de Janeiro: ABES, 2001. (CD-ROM).

BASTOS, R.K.X.; NASCIMENTO, L.E.; BETÔNICO, G.C. Otimização do controle de qualidade da água tratada e distribuída para consumo humano - implementando a Portaria 1.469/2000 In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 22, 2003, Joinville - SC. *Anais...*Rio de Janeiro: ABES, 2003b. (CD ROM).

BASTOS, R.K.X.; PERÍGOLO, R.A.; NASCIMENTO, L.E. Controle operacional e da qualidade da água em estações de tratamento em situações adversas. A importância do conhecimento dos parâmetros de funcionamento da ETA In: EXPOSIÇÃO DE EXPERIÊNCIAS MUNICIPAIS EM SANEAMENTO, VII, 2003a, Santo André –SP. *Anais...* Jaboticabal: ASSEMAE, 2003a (CD ROM).

BEZERRA, R.P.; BORBA, F.K.S.L.; MOREIRA, K.A.; LIMA FILHO, J.L.; PORTO, A. L.F.; CHAVES, A.C. Extração líquido-líquido da amilase produzida *pele Bacillus subtilis* no sistema de duas fases aquosas. *Brazilian Biology and technology*, .Vol.49, N.4, Curitiba July 2006.

BRAGA, M.D. Análise de perigos e pontos críticos de controle – APPCC: estudo de caso no sistema de abastecimento de água da Universidade Federal de Viçosa. 2007.132 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de Março de 2004. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 de Dezembro de 2004.

BRASIL. Organização Mundial da Saúde. Organização Pan-Americana da Saúde. *A saúde no Brasil*. Brasília: OPAS/OMS, 1998. 18p.

CANTUSIO-NETO, R. Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em diferentes pontos do processo de tratamento de água em diferentes pontos do processo de tratamento de água, em Campinas, São Paulo, Brasil. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CAREY, C.M.; LEC, H.; TREVEORS, J.T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*, v. 38, n. 4, p. 818-862, Fevereiro 2004.

- CERQUEIRA, D.A.; GALINARI, P.C.; FONSECA, Y.M.F. Bactérias esporogênicas como parâmetro auxiliar no controle do tratamento da água de consumo. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL, 27, 2000, Porto Alegre. *Anais...* Rio de Janeiro: ABES, 2000 (anais eletrônicos).
- CHAURET, C.; HODSON, J.; BALLANTYNE, L.; RADZIMINSKI, C.; ANDREWS, R. C. Evaluation of *Bacillus subtilis* spores as microbial indicators for *Cryptosporidium parvum* inactivation when disinfecting with chlorine dioxide. In: WATER QUALITY TECHNOLOGY CONFERENCE – AWWA, 1999, Tampa - Fla. EUA.
- COSTA, G.M.; ASSIS, R.A.; LOBATO, F.C.F.; ABREU, V.L.V.; SANTOS, S.L.; UZAL, F.A. Diarréia em leitões lactentes por *Clostridium perfringens* tipo A em granjas tecnificadas nos estados de Minas Gerais e São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 56, n. 3, p. 401-404, 2004.
- COSTA-MACEDO, L.M.; MACHADO-SILVA, J.R.; RODRIGUES-SILVA, R. Enteroparasitoses em pré escolares de comunidades favelizadas da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v.14, n.4, p.851-855, 1998.
- COUPE, S.; SARFATI, C.; HAMANE, S.; DEROUIN, F. Detection of *Cryptosporidium* and Identification to the Species Level by Nested PCR and Restriction Fragment Length Polymorphism. *Journal of Clinical Microbiology*; v.43, n.3, p.1017–1023, 2005.
- COX, P.; GRIFFITH, M.; ANGLES, M.; DEERE, D.; FERGUSON, C. Concentrations of Pathogens and Indicators in Animal Feces in the Sydney Watershed. *Applied and Environmental Microbiology*. V.71, n.10, p. 5929–5934, 2005.
- CRAUN, G. F. Waterborne Giardiasis in the United States: A review. *American Journal of Public Health*, v.69, n.8, p. 817-819, 1979.
- CRAUN, G.F.; HUBBS, S.A.; FROST, F. et al. Waterborne outbreaks of cryptosporidiosis. *Journal of American Water Works Association*, v.90, n.9, p.81-91, 1998.
- CROCKETT, C.S.; HAAS, C.N. Understanding protozoa in your watershed. *Journal of American Water Works Association*, v.89, n.9, p.62-73, 1997.
- CROMPTON, D.W.T.; SAVIOLI, L. Intestinal paraitic infections and urbanization. *Bulletin of the World Health Organization*, v.71, p.1-7, 1993.
- DAVIES, C.M.; FERGUSON, C.M.; KAUCNER, C.; KROGH, M.; ALTAVILLA, N.; DEERE D.A.; ASHBOLT, N.J. Dispersion and Transport of *Cryptosporidium* Oocysts from Fecal Pat sunder Simulated Rainfall Events. *Applied And Environmental Microbiology*. v.70, n.2, p. 1151–1159, 2004.
- DYKES, A.C.; JURANEK, D.D.; LORENZ, R.A. et al. Municipal waterborne giardiasis: an epidemiologic investigation. *Annals of Internal Medicine*, v.92, p.165-170, 1980.
- FAYER, R. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*, v. 126, p. 37-56, 2004.
- FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S.J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, v.30, p.1305-1322, 2000.

FEACHEM, R.G.; BRADLEY, D.J.; GARELICK, H.; MARA, D.D. *Sanitation and disease: health aspects of excreta and wastewater management*. New York: Jonh Wiley & Sons, 1983. 501p.

FERGUSON, C.M.; COOTE, B.G.; ASHBOLT, N.J., et al. Relationships between indicators, pathogens and water quality in an stuarine system. *Water Research*, v.30, n.9, p.2045-2054, 1996.

FERREIRA, C.B.; MARÇAL JÚNIOR, O. Enteroparasitoses em escolares do distrito de Martinésia, Uberlândia, MG um estudo-piloto. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.30, n.5, p.373-377, 1997.

FLEMMING, J.S.; FREITAS, R.J.S. Avaliação do efeito de probióticos (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. *Archives de Veterinary Science*, v. 10, n. 2, p. 41-47, 2005.

FOUT, G.S.; SCHAEFFER III, F.W.; MESSER, J.W.; DAHLING, D.R.; STETLER, R.E. Membrane filtration method for *C perfringens*. *ICR Microbiological Laboratory Manual*, EPA 600/R- 95/178, Cincinnati, 1996.

FRANCO, R.M.B.; CANTUSIO NETO, R.; BRANCO, N. Detecção de *Cryptosporidium* sp e *Giardia* sp em água pela técnica de filtração em membrana: estudo comparativo entre diferentes técnicas de eluição. *Jornal Brasileiro de Patologia*, 37(4):205, 2001.

FRICKER C.R; CRABB, J.H. *Advancer in Parasitology*, v. 40, p. 242-278, 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, S. Paulo-Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, v.31, n.2, p. 23- 30, 2000.

GARIBOGLIO et al., 1989 apud TAUS, M.R.; GASPAROVIC, A.; PIAGGIO, O.; GOLDARACENA, C.; GIACOPUZZI, M.; PIAGGIO, R.; PEZZANI, B.; MINVIELLE, M. Prevalence of *Giardia lamblia*, its detection in water and its relationship with environmental factors in Gualeguaychu, Argentina. *Bol Chil Parasitol*, v.53, n. 3-4, p.88-92, 1998.

GASSMANN, L.; SCHWARTZBROD, J. Wastewater and *Giardia* cysts. *Water Science and Technology*, v.24, n.2, p.183-186, 1991.

GIRALDI, N.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T.; GARCIA, J.L. Enteroparasites prevalence among daycare and elementary school children of municipal schools, Rolândia, PR, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, n.4, p.385-387, 2001.

GLICKER, J.L.; EDWARDS, R.A. Giardiasis risk from an unfiltered, protected surface water source. *Journal American Water Works Association*, p. 46-51, 1991.

GRIMASON, A.M.; SMITH, H.V.; THITAI, W.N. et al. Occurrence and removal of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in Kenyan waste stabilization ponds. *Water Science Technology*, v. 27, n.3-4, p.97-104, 1993.

HAAS, C.N.; ROSE, J.B. Developing an action level for *Cryptosporidium*. *Journal of American Water Works Association*, v.87, n.9, p.81-84, 1995.

HACHICH, E.M.; SATO, M.I.Z.; GALVANI, A.T.; MENEGON, J.R.N.; MUCCI, J.L.N. *Giardia* and *Cryptosporidium* in source waters of São Paulo State, Brazil. *Water Science and Technology* v.50, n.1, p. 239-245, 2004.

HANCOCK, C.M.; ROSE, J.B.; CALLAHAN, M. *Crypto* and *Giardia* in US groundwater. *Journal of the American Water Works Association*, v.58, n.3, p.58-61, 1997.

HARDIE, J.M.; WHILEY, R.A. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, v.83, p.1S-11S, 1997.

HELLER, L.; VIEIRA, M.B.C.M.; BRITO, L.L.A.; SALVADOR, D.P. Desempenho da filtração lenta em areia submetida a cargas de pico de oocistos de *Cryptosporidium* sp, bactérias e sólidos: uma avaliação em instalação piloto. *Revista Engenharia Sanitária e Ambiental*. v.11, n.1, p.27-38, 2006.

HEITMAN, T.L.; FREDERICK, L.M.; VISTE, J.R.; GUSELLE, N.J.; MORGAN, U. M.; THOMPSON, R.C.A.; OLSON, M.E. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* and characterization of *Cryptosporidium* spp. isolated from wildlife, human, and agricultural sources in the North Saskatchewan River Basin in Alberta, Canada. *Can. J. Microbiol.* v.48, p.530-541, 2002.

HIBLER, C.P. Analysis of municipal water samples for cysts of *Giardia*. In: WALLIS, P.M.; HAMMOND, B.R. (Eds.). *Advances in Giardia Research*, Calgary: University of Calgary Press, 1988. p.237-245 apud UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Giardia human health criteria document*. Washington-DC: EPA, 1998 (EPA-823-R-099-002).

HORMAN, A.; RIMHANEN-FINNE, R.; MAUNULA, L.; VON BONSDORFF, C-H.; TORVELA, N.; HEIKINHEIMO, A.; HANNINEN, M-L. *Campylobacter* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., Noroviruses, and Indicator Organisms in Surface Water in Southwestern Finland, 2000-2001. *Applied and Environmental Microbiology*. v.70, n.1, p. 87-95, 2004

HUBBARD, R.K.; NEWTON, G.L.; HILL, G.M. Water quality and the grazing animal -1 *Journal of Animal Science*. v. 82, p. 255-263, 2004.

HSU, B.M.; HUANG, C. Recovery of *Giardia* and *Cryptosporidium* from water by various concentration, elution and purification techniques. *J. Environ. Qual.* v.29, p.1587-1593, 2000.

HSU, B.M.; YEH, H.H. Removal of *Giardia* and *Cryptosporidium* in drinking water treatment: a pilot-scale study. *Water Research*, v.37, p.1111-1117, 2003.

ISAAC-RENTON, J.; MOOREHEAD, W.; ROSS, A. Longitudinal studies of *Giardia* contamination in two community-drinking water supplies: cysts levels, parasite viability and health impact. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, n.1, p.47-54, 1996.

JIANG, J.; ALDERISIO, K.A.; XIAO, L. Distribution of *Cryptosporidium* Genotypes in Storm Event Water Samples from Three Watersheds in New York. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n.8, p. 4446-4454, 2005.

KENT, G.P.; GREENSPAN, J.R.; HERNDON, J.L.; MOFENSON, L.M.; HARRIS, J.S.; ENG, T.R.; WASKIN, H.A. Epidemic Giardiasis caused by a contaminated Public Water Supply. *AJPH*, v.78, n.2, p.139-143, 1988.

KNUDSTON, L.M.; HARTMAN, P.A. Routine procedures for isolation and identification of Enterococci and Fecal Streptococci. *Applied and Environmental Microbiology*, v.58, n.9, p.3027-3031, 1992.

LAZZARETTI, E.; MELO, I.S. Influência de *Bacillus subtilis* na promoção de crescimento de plantas e nodulação de raízes de feijoeiro. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento - EMBRAPA*, v. 28, n. 155, p. 1516-4675, Janeiro 2005.

LE CHEVALLIER, M.W.; NORTON, W.D. *Giardia* and *Cryptosporidium* in raw and finished water. *Jour. AWWA*, v.87, n.9, p.54-68, 1995.

LE CHEVALLIER, M.W.; NORTON, W.D.; ATHERHOLT, T.B. Protozoa in open reservoirs. *Jour. AWWA*, v.89, n.9, p.84-96, 1997.

LIMA, J.D. *Sarcocystis*, *Isospora* e *Cryptosporidium*. In: NEVES, D.P. (Org.) *Parasitologia humana*. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 157-163.

LOBATO, F.; ASSIS, R.A. Clostridioses dos animais In: SIMPÓSIO MINEIRO DE BUIATRIA, 2, 2005. *Anais...* Belo Horizonte: ABMG.

Mac KENZIE, W.R.; HOXIE, N.J.; PROCTOR, M.E.; GRADUS, S.; BLAIR, K.A.; PETERSON, D.E.; KAZMIERZAK, J.J.; ADDISS, D.G.; FOX, K.R.; ROSE, J.B.; DAVIS, J.P. A Massive Outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* Infection Transmitted through the Public Water Supply. *New England Journal of Medicine*, v.331, p.161-167, 1994.

MARA, D.D.; CAIRNCROSS, S. *Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excret in Agriculture and Aquaculture*. World Health Organization/ United Nations Environment Programme, 1989.

MARSHALL, M.M.; NAUMOVITZ, D.; ORTEGA, I., et al. Waterborne Protozoan Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, v.10, n.1, p.67-85, 1997.

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. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 267-274, 2003.

MELO, I.S.; VALARINI, P.J. Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mrat.) Sacc. Em pepino (*Cucumis sativum* L.). *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 326-330, Mai-Ago 1995.

MONIS, P.T.; THOMPSON, R.C.A. *Cryptosporidium* and *Giardia* – zoonoses: fact or fiction? *Infection, Genetics and Evolution*, v. 3, p. 233-244, 2003.

MONTEIRO, C.A.; CHIEFFI, P.P.; BENICIO, M.H.D.; DIAS, R.M. de S.; TORRES, D.M.A.G.V.; MANGINI, A.C.S. Estudo das condições de saúde das crianças do município de São Paulo (Brasil), 1984/1985. *Revista de Saúde Pública*, v.22, n.1, p.8-15, 1988.

MORRISON, D.; WOODFORDN.; COOKSON, B. Enterococci as emerging pathogens of humans. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, v.83, p.89S-99S, 1997.

- MOTT, K.E.; DESJEUX, P.; MONCAYO, A.; RANQUE, P.; RADDI, P. de. Parasitic diseases and urban development. *Bulletin of the World Health Organization*, v.68, n.6, p.691-698, 1990.
- MUSIAL, C.E.; ARROWOOD, M.J.; STERLING, G.R.; GERBA, C.P. Detection of *Cryptosporidium* in water using Polypropylene Cartridge Filters. *Applied Environmental Microbiology* v.53, p. 687, 1987.
- NEVES, D.P. *Parasitologia humana*. 10.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2000. 428p.
- NIEMINSKI, E.C.; ONGERTH, J.E. Removing *Giardia* and *Cryptosporidium* conventional treatment and direct filtration. *Jour. AWWA*, v.87, n.9, p.90-106, 1995.
- O'TOOLE, J.; KAUCNER, C. Monitoring drinking water supplies for protozoan pathogens. *61st Annual Water Industry Engineers and Operators' Conference Civic Centre – Shepparton*, 1998.
- OLIVEIRA, A.A.; BEVILACQUA, P.D. *Enteroparasitas e perfil demográfico-sanitário: estudo de demanda laboratorial de exames parasitológicos de fezes no município de Viçosa - Minas Gerais*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2001. 84p. (Relatório final, Iniciação Científica).
- OLIVEIRA, A.A. Enteroparasitas em populações usuárias de diferentes sistemas de abastecimento de água em Viçosa-MG. Viçosa, Minas Gerais. 2004. 146 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- ONGERTH, J.E.; STIBBS, H.H. Identification of *Cryptosporidium* oocysts in River Water. *Applied Environmental Microbiology* v.53, p.672-676, 1987.
- OTUKI, A.K.; MACRUZ, R.; BALDASSI, L. Morte de equino puro sangue determinada por mionecrose. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 71, p. 748-749, 2004.
- PALMATEER, G.; ALDOM, J.; CHAGLA, A., et al. Field investigation for the detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts using a membrane filter dissolution method. In: ANNUAL CONFERENCE WATER RESEARCH, 1996, Toronto. *Proceedings...* American Water Works Association apud VIEIRA, M.B.C.M. *Avaliação da eficiência do processo da filtração lenta na remoção de oocistos de Cryptosporidium sp e cistos de Giardia spp, em modelos reduzidos*. 2002. 1 CD-ROM. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- PELCZAR, M.J.Jr.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. *Microbiologia, conceitos e aplicações*. v.1, 1996.
- PENHA, M.D.L.; BALDASSI, L.; CORTEZ, A.; PIATTI, R.M.; RICHTZENHAIN, L.J. Detecção dos genes das toxinas alfa, beta e épsilon em amostras de *Clostridium perfringens* isoladas do bovinos pela reação em cadeia da polimerase (PCR). *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 277-281, 2005.
- PEREIRA, M.G. *Epidemiologia teoria e prática*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 583p.
- PINTO, B.; PIEROTTI, R.; CANALE, G.; REALI, D. Characterization of 'faecal streptococci' as indicators of faecal pollution and distribution in the environment. *Letters in Applied Microbiology*, v.29, p.258-263, 1999.

- PITA, M.S. Tendência actual del estreptococo como indicador de contaminação fecal. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, v.40, n.1, p.38-43, 2002.
- RADZIMINSKI, C.; BALLANTYNE, L.; HODSON, J. Disinfection of *Bacillus subtilis* spores with chlorine dioxide: a bench-scale and pilot-scale study. *Water Research*, v. 36, n. 6, p. 1629-1639, Março 2002.
- REAL, G.; HENRIQUES, A. D. Controle da iniciação da esporulação em *Bacillus subtilis*. *Boletim Biotecnologia – Microbiologia molecular*, v. 68, p. 2-12, 1999.
- REY, L. *Parasitologia médica*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 1992.
- RICE, E.W; FOX, K.R; MILTNER, R.J.; LYTLE, D.A. JOHNSON, C.H. Evaluating plant performance with endospores, *Journal of American Water Works Association*, v.88, n.9, p.112-130, 1996
- ROSE, J.B. Occurrence and significance of *Cryptosporidium* in water. *Journal of American Water Works Association*, v.80, n.2, p.53-58, 1988.
- ROSE, J.B.; DARBIN, H.; GERBA, C.P. Correlations of the protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* with water quality variables in a watershed. *Water Science Technology*, v.20, n.11-12, p.271-2776, 1988.
- ROSE, J.B.; GERBA, C.P. Use of risk assessment for development of microbial standards. *Water Science and Technology*, v.24, n.2, p.29-34, 1991.
- ROSE, J.B.; HAAS, C.N.; REGLI, S. Risk assessment and control of waterborne giardiasis. *American Journal of Public Health*, v.81, n.6, p.709-713, 1991.
- SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO - SAAE [on line]. Sistema de Água. 2000 [citado 10 ago.2000]. Disponível na Internet: < [www. Saaevicosa.com.br](http://www.Saaevicosa.com.br) >
- SAVICHTCHEVA, O.; OKABE, S. Alternative indicators of fecal pollution: relation with pathogens and conventional indicator, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water Research*, v. 40, p. 2463-2476, 2006.
- SCHIJVEN, J.F.; BRUIN, H.A.M., HASSANIZADEH, S.M.; HUSMAN, A.M.R. Bacteriophages and *Clostridium* spores as indicator organisms for removal of pathogens by passage through saturated dune sand. *Water Research*, v. 37, p. 2186-2194, 2003.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
- SILVA, S.; ROLANDO, R.F.R.; BELLO, A.R. Genotipagem de isolados clínicos de *Cryptosporidium* spp. da cidade do Rio de Janeiro. In: FÓRUM DE DISCUSSÃO DO EIXO SÃO PAULO – RIO DE JANEIRO SOBRE A EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE CRYPTOSPORIDIUM, 1, 2006, Campinas -SP. (anais eletrônicos).
- SINTON, L.W.; DONNISON, A.M.; HASTIE, C.M., Faecal streptococci as faecal pollution indicators: a review. Part II: Sanitary significance, survival, and use. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, v. 27, p.117-137, 1993.
- SLAPETA, J. *Cryptosporidium* species found in cattle: a proposal for a new species. *TRENDS in Parasitology*, v.22, n.10, p.469-474, 2006.

SMITH, H.V.; GRIMASON, A.M.; BENTON, C. et al. The occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in Scottish waters and the development of a fluorogenic viability assay for individual *Cryptosporidium* spp. oocysts. *Water Science and Technology*, v.24, n.2, p.169-172, 1991.

SMITH, H.V.; SMITH, P.G.; GIRDWOOD, R.W.A. et al. Mechanisms and optimization for the removal and destruction of *Cryptosporidium* spp. oocysts in Kenyan waste stabilization ponds. Overseas Development Administration, ODA Research Scheme R4486 (in preparation), 1992 apud GRIMASON, A.M., SMITH, H.V., THITAI, W.N., et al. Occurrence and removal of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in Kenyan waste stabilization ponds. *Water Science Technology*, v.27, n.3-4, p.97-104, 1993.

SOCOL, V.T.; PAULINO, R.C.; PANDEY, A. Indicators of pollution conventional and molecular methods of detection In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEW HORIZONS IN BIOTECHNOLOGY, 2001, Trivandrum Proceedings... Trivandrum: [s.n.], 2001 (CD-ROM).

SOGAYAR, M.I.T.L.; GUIMARÃES, S. *Giardia lamblia*. IN: NEVES, D.P. (ORG.) *Parasitologia Humana*. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p.107-113.

SOLO-GABRIELE, H.M.; LEROY AGER, A.; FITZGERALD LINDO, J.; DUBON, J.M.; NEUMEISTER, S.M.; KARAS BAUM, M.; PALMER, C.J. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in water supplies of San Pedro Sula, Honduras. *Pan American Journal of Public Health*, v.4, n.6, p.398-400, 1998.

SOLO-GABRIELE, H.; NEUMEISTER, S. US outbreaks of cryptosporidiosis. *Journal of American Water Works Association*, v.88, n.9, p.76-86, 1996.

STATES, S.; STADTERMAN, K.; AMMON, L. et al. Protozoa in river water sources, occurrence and treatment. *Journal of American Water Works Association*, v.89, n.9, p.74-83, 1997.

STROHL, W.A.; ROUSE, H.; FISHER, B.D. *Microbiologia Ilustrada*. Porto Alegre: Artmed, 2004.

SYKORA, J.L.; SORBER, C.A.; JAKUBOWSKI, W. et al. Distribution of *Giardia* cysts wastewater. *Water Science and Technology*, v.24, n.2, p.187-192, 1991.

THOMPSON, R.C.A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary Parasitology*, v.126, p.15-35, 2004.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. (Eds.) *Microbiologia*. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. 827p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. *Information collection rule. ICR microbial laboratory manual*. Washington, D.C.: Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, 1996. 233p. (EPA/600/R-95/178).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. *Cryptosporidium* human health criteria document. Washington-DC: EPA, 2001 (EPA-822-K-094-001).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. *Giardia human health criteria document*. Washington-DC: EPA, 1998 (EPA-823-R-099-002).

VESEY, G.; SLADE, J.S.; BYRNE, M. et al. A new method for the concentration of *Cryptosporidium* oocysts from water. *Journal of Applied Bacteriology*, v.75, p.82-86, 1993.

VIANA, M.R. *Hidráulica Aplicada às Estações de Tratamento de Água*. 4.ed. Belo Horizonte: Imprimatur Artes Ltda, 2002.

VIEIRA, M.B.C.M; BRITO, L.L.A.; MACHADO, P.M.R.; HELLER, L. Verificação da ocorrência de cistos de *Giardia*, oocistos de *Cryptosporidium* e indicadores bacterianos nos Esgotos Sanitários da Bacia do Ribeirão Arrudas, Belo Horizonte, MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, 1999, Salvador – BA. *Anais...* Rio de Janeiro: ABES, 1999.

von SPERLING, M.; JORDÃO, E.P.; KATO, M.T.; ALÉM SOBRINHO, P.; BASTOS, R.K.X.; PIVELLI, R.P. Lagoas de estabilização In: FRANCI, R.G. (Coord.) *Desinfecção de efluentes sanitários*. Rio de Janeiro: ABES/RiMa Artes e Texto, 2003. p. 275-336 (Projeto PROSAB)

WALLIS, P.M.; ERLANDSEN, S.L.; ISAAC-RENTON, J.L.; OLSON, M.E.; ROBERTSON, W.J.; KEULEN, H. Prevalence of *Giardia* cists and *Cryptosporidium* oocysts and characterization of *Giardia* spp. Isolated from drinking water in Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, v.62, n.8, p.2789-2797, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. *Water Safety Plans. Managing drinking-water quality from catchment to consumer*. Geneva: WHO, 2005 (WHO/ SDE / WSH/ 05.06).

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Guidelines for drinking-water quality. 3. ed. 2004. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3/en/. Acesso em 17 Nov. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. World processing, database and statistics e program for public health (EpiInfo). Versão 6.04b. Genebra: WHO, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. *Guidelines for Drinking-water Quality - Recommendations*, v.1, WHO library, 2006.

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

APÊNDICE A

Instrumento de coleta de dados primários dos proprietários integrantes da amostra para análise parasitológica de fezes animais para diagnóstico de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*.

Nº Ficha: _____

Dados sobre o proprietário

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Informações sobre exploração animal:

1) Principal espécie animal explorada:

bovina caprina ovina

2) Número de Animais: _____

3) Existem outros animais na propriedade:

SIM NÃO (neste caso, vá para a pergunta número 4).

Quais? bovinos caprinos ovinos Outros: _____

4) Qual a fonte de água utilizada pelos animais:

poço (cisterna) poço artesiano minas/nascente

represa/lagoa/lago rio/ribeirão

5) A água destinada aos animais recebe algum tratamento?

SIM NÃO (neste caso, vá para a pergunta número 6).

Qual: _____

6) Qual é o destino dado às fezes produzidas pelos animais?

esterqueira compostagem uso direto como adubo

disposição no solo sem qualquer uso despejo em coleções de água

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO

Ficha N°: _____

Data: ____/____/____

Dados sobre o Paciente

Nome do Paciente: _____

Nome do Responsável: _____

Rua: _____

Número: _____ Complemento: _____ Telefone: _____

Bairro: _____ Distrito: _____

Sexo: M F

Idade: _____ anos _____ meses

a) Freqüente creche?

Não

Sim

Quanto tempo permanece na creche?

Meio período (4 horas)

Período integral (8 horas)

Dados sócio-econômicos e de saneamento:

Renda familiar: _____

I- Abastecimento de água:

Tem sistema público na rua?

Não

Sim

Conectado

Conexão desligada

Não Conectado



Por quê? Preço

Suspeita da água

Intermitência

Outros _____

II- Consumo de água (bebida) :

Sistema público?

Consome

Não consome



Por quê?

Preço

Suspeita da água

Intermitência

Outros _____

III- Fontes alternativas usadas:

Existem?

Não

Sim Consome

Não consome



Por quê?

Preço

Suspeita da água

Intermitência

Outros

Qual: _____

IV Canalização interna

Sim

Não

V- Acondicionamento

Caixa d'água

Latão

Outros _____

Tampada (o)

Não tampada (o)

VI- Esgotamento sanitário

Rede pública

Fossa

Córrego

VI- Filtro

Sim

Não

APÊNDICE C
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
DEPARTAMENTO DE VETERINÁRIA/DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL

Projeto: Dinâmica de cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em mananciais de captação de água para consumo humano e riscos à saúde associados

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Aos _____ dias do mês de _____ de 2004, eu, Grazielle Menezes Ferreira, aluna de graduação do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, telefone 899-1467, procurei o(a) Sr(a) _____, no endereço _____, seu local de residência. Na ocasião solicitei a colaboração para com o projeto acima referido, permitindo a realização de entrevista para preenchimento de questionário sobre temas relacionados ao consumo de água em sua residência e a coleta de material fecal de seus dependentes menores de idade, com o objetivo de avaliar a presença de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* nas amostras fecais e, a partir dessas informações, verificar a existência de associação entre a qualidade da água consumida e a infecção por estes parasitas.

A entrevista e coleta do material fecal são realizadas por amostragem aleatória simples de crianças de ambos os sexos e com idades variadas, residentes na área de abrangência da bacia hidrográfica do Ribeirão São Bartolomeu. Serão realizadas 4 coletas de material fecal, com intervalos trimestral. Estas serão utilizadas para os testes de detecção do parasita. Os resultados dos exames serão informados única e exclusivamente aos envolvidos e os indivíduos que apresentarem resultado positivo, em qualquer coleta, serão orientados a procurar o serviço de saúde municipal ou atendimento particular, se assim preferirem, para tratamento.

A participação no estudo é voluntária, portanto não existe remuneração ou vínculo empregatício, e, ao indivíduo, confere-se o direito de se recusar a participar ou se retirar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo ou justificativa. Qualquer enfermidade ocorrida durante a pesquisa não é de responsabilidade da equipe, uma vez que os procedimentos adotados não estão associados a qualquer dano à saúde. Assim a equipe de trabalho fica isenta da obrigação de tratamento de enfermidade durante o estudo.

Terminado o trabalho de coleta dos dados, e tendo garantido o material necessário ao desenvolvimento do projeto, assumi com o(a) entrevistado(a), assim como com todos(as) os(as) outros(as) participantes, o compromisso de destruir toda e qualquer referência que permita a identificação nominal de cada entrevista, garantindo assim sigilo absoluto das informações. Os resultados da pesquisa serão analisados e aos envolvidos será assegurada total a privacidade. Em contrapartida, o(a) entrevistado(a) me dá o direito de utilizar as informações prestadas e os resultados dos exames para a realização do trabalho e publicação de seus resultados, direito limitado única e exclusivamente para este fim, não sendo permitido qualquer outro tipo de uso das mesmas.

Viçosa, aos _____ dias de _____ de 2004.

Aluna de graduação em Medicina Veterinária
Departamento de Veterinária – UFV

Ciente: _____
Assinatura do responsável

APÊNDICE D

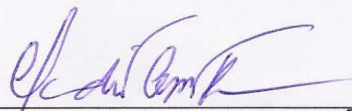
CERTIFICADO

A Comissão de Ética do DVT / UFV certifica que o processo n. ° 42 / 2006, intitulado “**Estudo integrado da qualidade microbiológica da água da bacia do ribeirão São Bartolomeu: análise epidemiológica ambiental e espacial**” está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em reunião de 29/09 /2006.

CERTIFICATE

The Ethic Committee of DVT / UFV certify that the process number 42/ 2007, named “**INTEGRATED STUDY OF MICROBIOLOGICAL WATER QUALITY IN SÃO BARTOLOMEU WATERSHED: EPIDEMIOLOGIC, ENVIRONMENTAL AND SPECIAL ANALYSIS**” is in agreement with the Medical Veterinary Professional Ethics Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Departmental Commission on March 1, 2007 approved this process.

Viçosa, 01 de março de 2007



Presidente da Comissão de Ética
Depto. de Veterinária / UFV

APÊNDICE E



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

Viçosa, 03 de fevereiro de 2003.

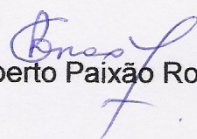
Ilm^a. Sr^a.
Prof^a. Paula Dias Bevilacqua
Departamento de Medicina Veterinária
UFV

Prezada Professora

Informamos a V. S^a. que o seu projeto de pesquisa *Dinâmica de cistos de Giardia sp. e oocistos de Cryptosporidium spp. em mananciais de captação de água para consumo humano e riscos à saúde associados* foi aprovado por este comitê de Ética.

Informamos, outrossim que o Comitê de Ética julga apenas o mérito ético de cada projeto.

Atenciosamente,


Prof. Gilberto Paixão Rosado