

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Campus de Botucatu

Luciana Andréia Araujo

Pesquisa de ovos de helmintos e cistos de protozoários parasitos em recursos hídricos destinados à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu - SP – Brasil.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Área de concentração: Vigilância Sanitária).

Botucatu/SP

2005

Luciana Andréia Araujo

Pesquisa de ovos de helmintos e cistos de protozoários parasitos em recursos hídricos destinados à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu - SP - Brasil.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Área de concentração: Vigilância Sanitária).

Orientador: Germano Francisco Biondi

Botucatu/SP

2005

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Araujo, Luciana Andréia.

Pesquisa de ovos de helmintos e cistos de protozoários parasitos em recursos hídricos destinados à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu - SP – Brasil./ Luciana Andréia Araujo. – 2005.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2005.

Orientador: Germano Francisco Biondi

Assunto CAPES: 40101096

1. Parasitologia 2. Cisticercose

CDD 574.5249

Palavras-chave: Cisticercose; Recursos hídricos; *Taenia spp*

DEDICO

Ao meu pai Nelson Araujo *“in memorian”*, energia viva refletida em meus atos.

À minha mãe Elisete e minhas irmãs Jaira e Fernanda, meu amor incondicional.

***“O futuro pertence àqueles que
acreditam na beleza de seus sonhos”.***

(Eleanor Roosevelt)

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À DEUS, Fonte eterna de Luz e Paz Espiritual.

À minha mãe Elisete Miranda Araujo e minhas irmãs Jaira da Graça Araujo e Fernanda Edinéia Araujo, meus sobrinhos Leonardo Araujo Jantsch, Amanda Araujo Jantsch e Henrique Araujo Reis pelo amor, dedicação e por saberem compreender minha ausência no dia-a-dia do convívio familiar. Vocês são minha essência!

À minha “amiga-irmã” Eva Laurice Pereira Cunha, pelo aprendizado diário, pelo otimismo e energia. Você é um presente de DEUS!

Ao Victor de Souza Monteiro Bastos, pelo apoio e incentivo nas horas mais difíceis. Um amigo.

Ao meu orientador Prof. Germano Francisco Biondi, pelos conhecimentos transmitidos e confiança no trabalho desenvolvido.

Ao Prof. Alessandro T. do Amarante, pelo exemplo de profissionalismo, apoio e orientação. Um Mestre!

Ao Bautista Dorado Torres, pelo apoio, companheirismo, cumplicidade e força. Uma pessoa especial que preenche minha vida!

MUITO OBRIGADA!

AGRADECIMENTOS

À Dra. Vanete Thomaz Soccol, pela doação do material e por transmitir parte de seus conhecimentos teóricos e práticos para o desenvolvimento desse trabalho.

À Dra. Caris Maroni Nunes, pela doação do material e atenção a mim dispensada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia do Instituto de Biociências – Unesp, Botucatu, pelo auxílio no desenvolvimento prático desse trabalho.

Ao Prof. Reinaldo, chefe do Departamento de Parasitologia do Instituto Biociência – Unesp, Botucatu, pelo material disponibilizado e atenção a mim dispensada.

Aos amigos Juliana Rosa Carrijo e Nelson, pelas horas de companheirismo, apoio e auxílio na parte experimental desse trabalho.

Ao amigo Jonas Brant da Vigilância Sanitária de Botucatu, pelo empenho, profissionalismo, auxílio e disponibilidade de sempre.

MUITO OBRIGADA!

ÍNDICE

Lista de tabelas	
Lista de figuras	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Recursos hídricos	3
2.2 Etiologia do complexo teníase-cisticercose	6
2.3 Ovos de <i>Taenia</i> spp.	8
2.4 Resistência dos ovos de <i>Taenia</i> spp.	8
2.5 Ciclo Evolutivo	9
2.5.1 Ciclo da <i>Taenia saginata</i>	9
2.5.2 Ciclo da <i>Taenia solium</i>	10
2.6 Epidemiologia.....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 FASE I: Determinação e padronização das técnicas de recuperação de ovos de <i>Taenia</i> spp.	13
3.1.1 Obtenção das Proglotes Grávidas de <i>Taenia saginata</i>	14
3.1.2 Preparo da solução Mãe (sM) (Concentrado de ovos de <i>T. saginata</i>)	14
3.1.3 Preparo da solução A (sA)- Dicromato de Sódio® (<i>Densidade: 1,350</i>)	16
3.1.4 Preparo da solução B (sB) - Sulfato de Zinco® (<i>Densidade: 1,180</i>)	16
3.1.5 Testes comparativos das soluções (sA e sB)	16
3.1.6 Centrifugação das Amostras	17
3.1.7 Análise estatística Fase I	18
3.2 FASE II - Teste da sensibilidade da técnica de centrífugo-flutuação pelo Sulfato de Zinco® (D=1,180)	18
3.2.1 Metodologia	18
3.2.2 Análise estatística	19
3.3 FASE III - Pesquisa de ovos de <i>Taenia</i> spp. em amostras de água destinadas à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu–SP, período de agosto a novembro de 2003.....	19
3.3.1 Levantamento da região estudada	20

3.3.2 Análise da amostras de água	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 FASE I Determinação e padronização das técnicas de recuperação de ovos de <i>Taenia saginata</i>	24
4.2 FASE II Teste da sensibilidade da técnica de centrífugo-flutuação pelo Sulfato de Zinco® (D=1,180).....	26
4.3 FASE III Pesquisa de ovos de <i>Taenia</i> spp. em amostras de água destinadas à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu–SP, período de agosto a novembro de 2003.....	28
5. CONCLUSÕES	33
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

LISTA DE TABELAS

Tabela

- 1: Estudo comparativo entre as técnicas de centrífugo-flutuação pelo uso do sulfato de zinco e dicromato de sódio quanto a sensibilidade na recuperação de ovos de *Taenia saginata* – Lamínula de flutuação (L1).....25
- 2: Estudo comparativo entre as técnicas de centrífugo-flutuação pelo uso do sulfato de zinco e dicromato de sódio quanto a sensibilidade na recuperação de ovos de *Taenia saginata* – Sedimento (L5).....25
- 3: Resultados da análise parasitológica das amostras de água destinadas à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu - SP, período de agosto a novembro de 2003.....29

LISTA DE FIGURAS

Figura

1: Ovos de <i>Taenia saginata</i> em solução mãe em aumento de 40X.....	15
2: Ovos de <i>Taenia saginata</i> em solução mãe em aumento de 40X	15
3: Diluições de ovos de <i>Taenia saginata</i> em água destilada	19
4: Mapa das regiões censitárias de Botucatu que em seus limítrofes fazem parte da região peri-urbana	20
5: Açude captação de água para irrigação de fruticultura (Amostra A3).....	21
6: Açude para dessedentação animal – bovinos (Amostra E3).....	22
7: Açude propriedade dessedentação animal (Amostra N1).....	22
8: Análise de regressão referente à técnica de sedimentação com água destilada (D=1,100).....	26
9: Análise de regressão referente à técnica de sedimentação com sulfato de zinco (D=1,180).....	27
10: Ovo de <i>Taenia</i> spp. em aumento de 40X (amostra A4).....	30

ARAUJO, L.A. Pesquisa de ovos de helmintos e cistos de protozoários parasitos em recursos hídricos destinados à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu - SP - Brasil. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – 40p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Vigilância Sanitária) 2005.

RESUMO

O risco de contaminação de uma população, humana ou animal, por patógenos está diretamente ligada à presença de formas de resistência no ambiente quer seja no solo ou na água. A contaminação se dá, muitas vezes por falta de saneamento básico urbano ou mesmo, por descasos de ordem operacional de manutenção dos sistemas de tratamento. O objetivo do presente estudo foi pesquisar a presença de ovos de *Taenia* spp. em água destinada à irrigação agrícola e/ou consumo animal, na região peri-urbana de Botucatu-SP. Foram testadas duas técnicas de centrífugo-flutuação para comparação da sensibilidade de recuperação entre ambas. A primeira aqui denominada GRUPO 1 (G1) usou-se Dicromato de Sódio[®] (Densidade 1,350), a segunda denominada de GRUPO 2 (G2) usou-se Sulfato de Zinco[®] (D=1,180) e um terceiro GRUPO CONTROLE (GC)– Água destilada. Cada grupo teve a repetição de quatro tubos Falcon 15 mL, contendo em média 1600 ovos de *Taenia saginata*. Nos grupos o maior número de ovos foi recuperado no sedimento não havendo diferença estatística entre eles. A técnica selecionada para o processamento das setenta amostras que compuseram o presente estudo foi a centrífugo-sedimentação com uso do Sulfato de Zinco[®] (D=1,180). Foram recuperados três ovos de *Taenia* spp. de amostras de água colhidas de um manancial que dá vazão para um açude de onde é captada água para irrigação de pomares e serve também para dessedentação animal. Outras formas parasitárias foram encontradas nas amostras de água, ovos e larvas de helmintos, ácaros, cistos e oocistos de protozoários e outros de menor interesse em saúde pública, mas de grande valia para se obter um perfil parasitológico da região peri-urbana do município de Botucatu-SP. Os resultados obtidos alertam para pesquisas futuras, visando salvaguardar a população envolvida.

ABSTRACT

The risk of contamination of a population, human or animal pathogens is directly related to the presence of forms of resistance in the environment either in soil or water. It spreads, often for lack of urban sanitation or even through neglect of maintenance of the operational order processing systems. The aim of this study was to investigate the presence of eggs of *Taenia* spp. in water for agricultural irrigation and / or animal consumption in peri-urban area of Botucatu-SP. We tested two flotation techniques to compare the sensitivity of recovery between the two. The first group here called a (G1) used to Dichromate Sodium ® (1.350 density), the second named group 2 (G2) used to Zinc Sulfate ® (1.180 density) and one Control Group (CG) - Distilled water. Each group had a repetition of four 15 mL Falcon tubes containing on average 1600 eggs of *Taenia saginata*. In groups the largest number of eggs was recovered in the sediment there was no statistical difference between them. The technique selected for the processing of the seventy samples that formed the present study was the centrifugal-sedimentation with the use of Zinc Sulphate ® (D = 1.180). Were recovered three eggs of *Taenia* spp. of water samples collected from a source that gives rise to a dam where water is abstracted for irrigation of orchards and also serves to animal watering. Other parasitic forms were found in samples of water, eggs and larvae of helminths, mites, cysts and oocysts of protozoa and other less public health concern, but of great value to obtain a profile of the region parasitological peri-urban area of Botucatu-SP. The results warn of future research, seeking to safeguard the population involved.

1 INTRODUÇÃO

A poluição do meio ambiente é assunto de interesse público em todas as partes do mundo. Não apenas os países desenvolvidos vêm sendo afetados pelos problemas ambientais, como também os países em desenvolvimento. A escassez e poluição das águas, a baixa qualidade de moradia e ausência de saneamento básico têm sido assuntos de discussão (MANUAL¹, 1999).

A saúde de uma população, humana ou animal, está diretamente ligada à contaminação ambiental com metais pesados, formas resistentes de patógenos, presentes quer seja no solo ou em mananciais, muitas vezes por falta de saneamento básico urbano ou mesmo por descasos de ordem operacional de manutenção dos sistemas de tratamento (PAGANINI, 1997).

É notório que o uso de água para fins domésticos, industriais, agrícolas, para geração de energia, recreação e preservação ecológica vem aumentando a níveis preocupantes. A oferta de recursos hídricos em todas as regiões tem diminuído quantitativa e qualitativamente, com demanda crescente pela pressão demográfica e econômica das sociedades modernas. Estes efeitos são mais expressivos nas regiões áridas e semi-áridas, pois a escassez de água para usos diversos compromete a sobrevivência do próprio homem (SILVA, 2003).

A água, os alimentos crus ou mal cozidos e o solo são considerados veículos particularmente significantes na rota ambiental de transmissão dos estágios infectivos de protozoários e helmintos.

O desenvolvimento de métodos sensíveis e específicos para detecção e identificação de helmintos e cistos de protozoários podem refletir melhor o impacto das zoonoses parasitárias disseminadas pela água e pelos alimentos e seu significado em saúde pública.

Atenção particular tem sido dada aos fatores ambientais que modificam a sobrevivência e o grau de infectividade destes parasitas, bem como aos mecanismos responsáveis por sua dispersão, entre estes, a água.

O objetivo geral do presente estudo foi pesquisar a presença de ovos de helmintos e cistos de protozoários parasitos, em água destinada à irrigação agrícola e/ou consumo animal, na região peri-urbana de Botucatu-SP, por esta representar uma estreita faixa de transição entre as zonas urbana e rural. O alvo principal do referido estudo, foi a pesquisa de ovos *Taenia* spp. nas amostras de água da região em estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Recursos hídricos

Vinte e dois de março de 2004, Dia Mundial da Água. O fato de se consagrar um dia do ano à água é sinal de que o líquido, tão farto nas nossas torneiras, merece cuidados especiais. Antes de chegar às nossas casas, ela precisa primeiramente ser preservada e adequadamente armazenada nos mananciais, para depois captada, tratada e distribuída à população. É um bem precioso demais. Do mesmo modo, a água que sai de nossas casas pelos esgotos depois de usada, merece igual atenção, pois ela voltará para os córregos, rios e represas que abastecem várias cidades. Tratar o líquido e torná-lo adequado para o consumo humano e para o equilíbrio do meio ambiente é uma missão (CORREIO POPULAR, 2004).

A água é o composto químico mais abundante da face da terra. Cobre três quartos de sua superfície e sem ela não existe vida conforme conhecemos até o presente. A hidrosfera é a parte da terra onde a água e o vapor de água estão contidos. Estende-se desde 5 Km abaixo da terra até 11 Km acima da mesma. A hidrosfera contém aproximadamente 1,4 bilhões de Km^3 de água nas três fases: sólida, líquida e gasosa. Deste total a maior parte (97,2%) é salina nos oceanos e

mares, enquanto 2,15% é congelada nas calotas polares ou depósitos glaciais. Do restante, (0,65% - 8,5 milhões de Km³), 0,16% encontra-se na forma de vapor em atmosfera e 0,49% nos aquíferos subterrâneos, lagos, rios e córregos. No entanto, nem todas essas formas são acessíveis de forma econômica (TANJI & ENOS, 1994).

Segundo AYRES & WESTCOT (1991), o conceito de qualidade da água está relacionada com características que podem afetar sua adequabilidade para usos específicos, os quais podem ter diferentes requisitos de qualidade. Uma água será considerada de melhor qualidade se produzir melhores resultados para o propósito ao qual foi utilizada. Determinada água pode ser boa para a irrigação mas inaceitável para uso urbano. Mesmo para irrigação uma água poderá ser boa para determinada situação e cultura e não para outra. A qualidade da água para irrigação define-se principalmente por suas características físicas, químicas e biológicas.

O uso de águas residuárias é uma prática antiga que vem ganhando importância com a redução da disponibilidade de recursos hídricos de boa qualidade. Os nutrientes (especialmente matéria orgânica, nitrogênio e fósforo) dos esgotos públicos e efluentes industriais podem reduzir ou eliminar completamente a necessidade de fertilizantes comerciais (GHIGLIETTI et al., 1997).

A visão dos meios líquidos como depositários adequados dos resíduos e dejetos, e das vias aquáticas como condutos naturais de escoamento e dispersão do lixo, mostra total irracionalidade em face do despejo de substâncias de alta e rápida contaminação (MORAES, 1999).

A água utilizada na irrigação, tanto pode ser superficial (rio, riacho, açude etc.) ou subterrânea (poços artesianos e tubulares, barragens subterrânea etc.), (GHEYI et al., 1999).

Segundo BASTOS (1999), diversos fatores vieram contribuir para que o interesse pela irrigação com esgotos fosse renovado: a crescente escassez de recursos hídricos, o avanço do conhecimento técnico-científico sobre o potencial e as limitações do reuso agrícola e suas inegáveis vantagens: controle de poluição, economia de água e fertilizantes, reciclagem de nutrientes e aumento da produção agrícola. Além disso, o interesse pelo reuso controlado, ou seja, seguro do ponto de vista sanitário e otimizado do ponto de vista agrícola, surgiu do próprio reconhecimento de que a “proibição velada” não logrou “banir” a utilização de esgotos na agricultura. Ao contrário, apenas se viu crescer a prática espontânea ou

“clandestina” por parte de pequenos agricultores, perante a escassez de água e/ou, cientes do potencial fertilizante das águas residuárias.

Experiências contemporâneas incluem as mais diversas situações, desde o reuso controlado, muitas vezes como parte de planos e programas governamentais, até as práticas sem qualquer controle ou planejamento com a imposição de sérios riscos de saúde pública. No Peru, o Programa de Irrigação com Águas Residuárias prevê a implantação por etapas de 18.000 ha de área irrigada. Entretanto, dos cerca de 4.300 ha hoje irrigados, aproximadamente 70% são utilizados para o cultivo de hortaliças, em sua maioria com águas residuárias brutas (BASTOS, 1999).

A crescente demanda da sociedade pela manutenção e melhoria das condições ambientais tem exigido das autoridades e das empresas públicas e privadas atividades capazes de compatibilizar o desenvolvimento às limitações da exploração dos recursos naturais. Dentre esses recursos, os hídricos, que até a geração passada eram considerados fartos, tornaram-se limitantes e comprometidos, em virtude de alta poluição em algumas regiões, necessitando portanto, de rápida recuperação. Nessas condições, há que se tratar os esgotos urbanos, que são os principais poluidores dos mananciais hídricos (BETTIOL & CAMARGO, 2000).

TAKAYANAGUI et al. (2000) referem que o consumo de verduras cruas desempenha importante papel na transmissão de agentes patogênicos causadores de várias doenças infectoparasitárias pela freqüente prática de irrigação de hortas com água contaminada por matéria fecal ou mesmo adubadas com dejetos humanos.

O uso de esgotos ou águas contaminadas por esgotos na agricultura deve estar condicionado ao tratamento dos esgotos, de acordo com a legislação, às restrições quanto aos tipos de culturas e à escolha de métodos de aplicação e controle da exposição do homem e de animais (MAGALHÃES et al., 2001).

As águas utilizadas para a irrigação também são fontes originais de contaminação, pois podem estar associadas com descargas de esgotos, contendo grande quantidade de contaminantes, desde coliformes de origem fecal a parasitas intestinais (PACHECO, 2002).

As parasitoses intestinais são amplamente difundidas tanto nas áreas rurais quanto urbanas dos países em desenvolvimento devido às baixas condições

sanitárias, sendo as hortaliças consideradas como um dos veículos de suas formas infectantes. A principal forma de contaminação dessas hortaliças dá-se, principalmente, através da água contaminada utilizada na irrigação das hortas ou ainda por contaminação do solo, por uso de adubo orgânico com dejetos fecais (SILVA, et al., 2003).

2.2 Etiologia do complexo teníase-cisticercose

O Gênero *Taenia* pertence a Classe Cestoidea, Ordem Cyclophyllidea e Família Taeniidae, que se caracteriza por ausência completa de aparelho digestivo, segmentação do corpo em proglotes, dotadas cada qual de um sistema reprodutor hermafrodita, presença de quatro ventosas no escólex, úteros em forma de tubos longitudinais ramificados, testículos numerosos e poros genitais situados nas margens das proglotes com disposição irregularmente alternada (REY, 2001).

De acordo com HOBBERG (2002), as formas adultas e suas respectivas formas metacestóides foram denominadas: *Taenia saginata* – *Cysticercus bovis* e *Taenia solium* – *Cysticercus cellulosae*, baseados primariamente nas diferenças em morfologia larval.

A teníase e a cisticercose animal e humana no Brasil é pouco conhecida, devido à escassa divulgação dos dados obtidos no Serviço de Inspeção Federal e nos Laboratórios de Saúde Pública e à ausência de um programa de controle de zoonose e o fato de não haver obrigatoriedade de notificação dos casos humanos (DIAS et al., 1991).

A ocorrência do Complexo Teniose-Cisticercose é diretamente influenciada por baixas condições sócio-econômicas, precário saneamento básico, deficiente educação em saúde, hábitos alimentares e de higiene pessoal, criação doméstica indesejáveis de animais, precariedade e ineficiência de serviços de vigilância sanitária de alimentos e elevado comércio clandestino de carnes (UNGAR & GERMANO, 1991; FREITAS & PALERMO, 1996).

A cisticercose tem sido considerada uma das mais importantes zoonoses conhecidas, não apenas pelos agravos à saúde animal e conseqüentes implicações econômicas, mas também pela gravidade da doença na população humana. A importância de que se reveste seu estudo abrange tanto a esfera da medicina

veterinária quanto de saúde pública (ZAMPINI, 1994; ORYAN et al., 1995; CÔRTEZ, 2000).

O homem é o único hospedeiro definitivo da *Taenia saginata* e da *Taenia solium* e o único disseminador de ovos na contaminação de pastagens, forragens e água oferecida ao gado. Estudos têm demonstrado que a água vinda de esgotos não tratados nas fazendas e rios que passam em grandes centros e são depositários de esgotos destas terras são aparentemente um importante risco na contaminação dos pastos com ovos de *Taenia* spp. (CÔRTEZ, 1984; COLLINS & POPPE, 1990; CÔRTEZ, 2000).

SOCOL & PAULINO (2000) referem que são necessários estudos epidemiológicos que confirmem ou inferem a infecção em bovinos por *Taenia saginata* com o uso nas pastagens de lodo não tratado. Se o lodo contendo ovos de *Taenia saginata* for usado para adubar pastagens para bovinos, pode ocorrer a infecção dos animais (cisticercose) não causando doença grave, mas resultando em condenação de carcaças e conseqüentemente prejuízos aos produtores. Na seqüência, se o homem ingerir carne bovina contaminada com cisticercos desenvolverá o parasito adulto, perpetuando o ciclo biológico do parasito. No caso do lodo conter ovos viáveis de *Taenia solium*, o risco maior é para a saúde humana, principalmente para indivíduos que tenham contato direto com este lodo. A infecção (ingestão de ovo) poderia causar comprometimento do sistema nervoso central (neurocisticercose).

Segundo BIONDI et al. (2000), é evidente que o problema ocorre pela falta de educação sanitária da população que vive na zona rural e por deficiências de saneamento básico. Outros fatores de risco contribuem para que o ciclo biológico permaneça em nosso convívio, como a comercialização e consumo de carne bovina originadas de abates clandestinos onde não se realiza nenhum tipo de controle da saúde ou do processamento do animal. Os hábitos culturais revestem-se de grande importância quando determinam o consumo de alimentos potencialmente perigosos, como a predileção por carne mal passada ou pratos típicos da culinária de cada país.

2.3 Ovos de *Taenia* spp.

Os ovos da *T. saginata* e da *T. solium* são microscopicamente impossíveis de se diferenciar. Eles são esféricos e medem de 30 a 40 micrômetros de diâmetro, são de cor marrom acinzentada e são constituídos por uma casca protetora denominada embrióforo, que é formado por blocos piramidais de quitina, unidos entre si por uma substância (provavelmente proteica) cimentante. Dentro do embrióforo encontra-se oncosfera ou embrião hexacanto com dupla membrana e três pares de acúleos (NEVES, 1986; VERONESI & FOCACCIA, 1996).

De acordo com REY (2001), o embrião dentro do ovo é tipicamente uma pequena esfera provida de três pares de acúleos, razão pela qual recebeu os nomes de oncosfera (do grego *onkos*, gancho) e de embrião hexacanto (do grego *hex*, seis, e *akantha*, espinho).

Os vetores mecânicos e carreadores, apesar de não serem essenciais na transmissão de ovos, favorecem sua disseminação. Dentre os vetores mecânicos, tem-se como exemplos os bezouros coprófagos, moscas, minhocas e baratas e, dentre os carreadores, as aves, tais como gaivotas, galinhas, pardais e corvos (GERMANO & GERMANO, 2001).

As proglotes grávidas e completamente amadurecidas possuem ovos imaturos (40%), maduros e férteis (50%) e senescentes (10%), em diferentes proporções variando de tênia para tênia, ou de proglote para proglote (MACHADO, 2002).

2.4 Resistência dos ovos de *Taenia* spp.

Os ovos de *T. saginata* podem sobreviver durante várias semanas ou meses em águas residuais, corpos d'água ou no pasto (ACHA & SZYFRES, 1986). VERONESI & FOCACCIA (1996) citam que os ovos permanecem vivos no exterior, em boas condições de umidade e temperatura, durante 3 a 12 meses. São rapidamente destruídos por dessecação, frio intenso e calor.

A viabilidade desses ovos no ambiente depende das condições de temperatura e umidade, e sua disseminação ocorre principalmente através dos rios, chuvas, pássaros e insetos coprófagos (ACHA & SZYFRES, 1986; FLISSER et al., 1990).

Segundo CÔRTEZ (1984), REY (1992) e CÔRTEZ (2000) a resistência dos ovos das tênias ao meio externo é de grande importância, pois podem sobreviver durante várias semanas ou meses em água residuais, curso d'água ou nos pastos. Embora sofrendo influência dos mecanismos biológicos de fermentação e putrefação, resistem à maioria dos processos de digestão utilizados na depuração de esgotos, sendo encontrados no líquido decantado dos tanques de sedimentação e resistindo aos processos de fermentação que se desenvolve no sistema de "lodos ativos", cujo produto (lodo digerido seco) é utilizado como fertilizante.

2.5 Ciclo Evolutivo

Segundo VERONESI & FOCACCIA (2002), as proglotes são subdivididas em jovem, madura e grávida, a partir do colo. Elas possuem função na alimentação (difusão do alimento digerido do hospedeiro no tegumento) e, principalmente as últimas, na reprodução (órgãos genitais masculino e feminino maduros). Chegam a conter 80.000 ovos em *T. solium* e 160.000 em *T. saginata*.

O homem, hospedeiro definitivo, ao eliminar pelas fezes ou espontaneamente proglotes grávidas contendo ovos, contamina pastos e água. Portadores de *Taenia* podem albergar o parasita por mais de 20 anos, contaminando assim continuamente o meio ambiente. Os hospedeiros intermediários se infectam ao ingerirem acidentalmente ovos de *Taenia* spp. proveniente de rações, pastos e águas contaminadas, ou devido ao hábito de coprofagia dos suínos, desenvolvendo a cisticercose animal. O *C. bovis* pode permanecer viável no bovino por até 9 meses, e o *C. cellulosae* pode sobreviver vários anos no suíno. O homem adquire a teníase pelo consumo de carne suína ou bovina crua ou mal passada que contenha cisticercos (ACHA & SZYFRES, 1986; FLISSER et al., 1990).

2.5.1 Ciclo da *Taenia saginata*

Acredita-se que existam 77 milhões de pessoas com teníase por *Taenia saginata* no mundo, incluindo 32 milhões na África, 11 milhões na Ásia, 3 milhões no Novo Mundo (2 milhões na América do Sul e 2 milhões na América do Norte). No Brasil, Argentina, Venezuela, México, Colômbia, Guatemala e Uruguai a incidência

varia de 0,2% a 2,6%, sendo que no sul do Brasil sua incidência varia em torno de 0,10% a 3% (VERONESI & FACACCIA, 2002).

Bovinos domésticos são os principais hospedeiros da forma larvar da *Taenia saginata*, o *Cysticercus bovis* e, obviamente, as mais importantes fontes de infecção para a teníase humana. Algumas espécies selvagens podem infectar-se e tornarem-se fontes de infecção mas, na atualidade, seu papel parece ser irrelevante na história natural deste parasita (CÔRTEZ, 1984).

Os bovinos, ao pastarem, ingerem ovos viáveis, que darão origem aos cisticercos, denominados de *Cysticercus bovis*, de forma semelhante aos de *T. solium* no suíno. O desenvolvimento, nos tecidos dos bovinos, dura de 60 a 75 dias (ACHA & SZYFRES, 1986).

Águas de rio contaminadas com agentes patogênicos podem representar riscos se forem usadas para irrigação de plantação de verduras, ou de pastagens utilizadas para alimentação de bovinos. A presença de ovos de *Taenia saginata* na água pode contaminar pastagens que se ingeridas por bovinos poderão desenvolver cisticercose nos animais (SOCCOL & PAULINO, 2000).

2.5.2 Ciclo da *Taenia solium*

Os suínos são os hospedeiros mais importantes da forma larvar da *Taenia solium*, os *Cysticercus cellulosae* e, conseqüentemente, os principais responsáveis pela infecção humana com a forma adulta deste parasita. Cães também podem desempenhar algum papel como fonte de infecção naqueles países onde sua carne é aproveitada para o consumo humano. Embora a forma larvar da *Taenia solium* possa também evoluir nos tecidos do homem, este hospedeiro não contribui, naturalmente, para perpetuação do parasita na natureza (CÔRTEZ, 1984).

Estima-se que a cisticercose humana, causada pelo *Cysticercus cellulosae*, ocorra em 300 mil pessoas em todo o mundo (NEVES, 1986).

A cisticercose humana ocorre principalmente pela ingestão de alimentos crus (verduras, frutas) e água contaminada com fezes de indivíduos portadores de *T. solium*, ou pela introdução de ovos de *T. solium* à boca pelas mãos contaminadas pelas próprias fezes, devido à falta de hábitos higiênicos. Mais raramente, a infecção pode ocorrer por retro-peristaltismo das proglotes grávidas que poderiam ser levadas ao estômago e novamente ao intestino, onde se liberaria a oncosfera e

desenvolveria um cisticerco, mas a existência desse mecanismo de auto-infecção endógena não é comprovada (ACHA & SZYFRES, 1986; FLISSER et al., 1990).

A teníase por *T. solium* acomete cerca de 2,5 milhões de pessoas em todo o mundo (VERONESI & FACACCIA, 2002).

Os manipuladores de alimentos constituem um grupo de relevância epidemiológica na transmissão de parasitas intestinais, pois um pequeno descuido na higiene é suficiente para que agentes infecciosos, presentes em fezes humanas ou na região perianal, contaminem alimentos, permitindo a infecção de outros indivíduos (LOURENÇO, et al., 2002).

2.6 Epidemiologia

A maior e mais importante via de transmissão da cisticercose animal é constituída por alimentos contaminados com ovos maduros de *Taenia solium* e *Taenia saginata*. Alguns aspectos devem ser considerados em relação à contaminação dos alimentos destinados aos animais, especialmente as pastagens. Estas podem ser contaminadas por fezes eliminadas diretamente nos campos de criação por portadores humanos da tênia. Isso ocorre usualmente em área subdesenvolvida onde existe uma estreita promiscuidade entre a população humana e seus animais (CORTES, 1984).

Enteroparasitoses podem ser transmitidas por fontes de infecção humana ou animal, através de alimentos ou água contaminados com fezes de indivíduos infectados, principalmente devido a práticas higiênicas deficientes de manipuladores de alimentos (ALMEIDA et al., 1999).

Água, hortaliças *in natura* e hortaliças lavadas para o consumo constituem importantes meios de disseminação de cistos, ovos e larvas de enteroparasitas (COELHO et al., 2001).

Os parasitas intestinais propriamente ditos estão compreendidos no grupo dos helmintos e protozoários, que em razão da simplicidade dos seus ciclos evolutivos apresentam, em sua maioria, distribuição mundial ampla. Estudos epidemiológicos sobre enteroparasitas são de interesse mundial, e não restrito apenas a um país ou a uma população regional. Em consequência, pesquisas sobre tais agentes são de extrema importância para a identificação etiológica e fornecimento de subsídios para tratamento e/ ou controle das infecções parasitárias (LOURENÇO et al., 2002).

O homem constitui um elo essencial na epidemiologia da teníase/cisticercose: é o hospedeiro definitivo de ambas as espécies de tênia. Como hospedeiro definitivo, o homem contamina o solo com seus dejetos, dando condições a bovinos e suínos de se infectarem por coprofagia. O hospedeiro intermediário (suíno, bovino) ingere os ovos. A casca estriada das oncosferas (ovos) das tênia é mais ou menos resistente à acidez do suco gástrico dos mamíferos. Esta, então, fragmenta-se no suco intestinal alcalino, pondo em liberdade o embrião ou oncosfera (hexacanto). Este, com um diâmetro de cerca de 20 μ se insinua com auxílio de seus acúleos, entre os elementos anatômicos da mucosa intestinal e assim chega à luz dos capilares, especialmente venosos, e à circulação sistêmica. Vai se alojar na musculatura estriada, língua, diafragma, coração, músculos mastigadores, fígado e cérebro, recebendo a denominação de cisticerco ou vulgarmente “cajiquinha” (VERONESI & FOCACCIA, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido em três fases:

Na primeira fase, foram padronizadas técnicas de centrífugo-flutuação para a recuperação de ovos de *Taenia saginata*.

Na segunda fase estudou-se a sensibilidade da técnica de centrífugo-flutuação pelo Sulfato de Zinco[®] (D=1,180) utilizada na realização do presente trabalho.

Na terceira fase, foi realizada a pesquisa de ovos de *Taenia* spp. em amostras de água destinadas a irrigação agrícola e/ou consumo animal na região em estudo.

3.1 FASE I: Determinação e padronização das técnicas de recuperação de ovos de *Taenia saginata*

Com o intuito de recuperar ovos de *Taenia saginata*, de amostras de água previamente contaminadas, foram testadas duas técnicas de centrífugo-flutuação para comparação da sensibilidade entre ambas. Duas soluções foram analisadas. Um terceiro grupo denominado de Grupo Controle (GC) foi usado para determinar a sensibilidade das duas soluções. Três grupos fizeram parte da experimentação: Na

primeira técnica denominada de GRUPO 1 (G1), utilizou-se Dicromato de Sódio^{®1} (densidade 1,350), e na segunda, GRUPO 2 (G2) empregou-se Sulfato de Zinco^{®2} (densidade 1,180) e no GRUPO CONTROLE (GC) foi utilizado Água destilada. Para cada técnica usou-se a repetição de quatro tubos Falcon 15 mL, contendo em média 1600 ovos de *Taenia saginata* obtidos através de dissecação de uma proglote grávida.

3.1.1 Obtenção das proglotes grávidas de *Taenia saginata*

As proglotes forma obtidas pacientes não tratados e que eliminaram espontaneamente segmentos de *T. saginata*.

Após lavagens, as proglotes foram conservadas em solução fisiológica, em frascos com tampa de rosca, vedados com parafilme, devidamente identificados e mantidos à temperatura média de 2°C.

Lavagens periódicas com solução fisiológica foram realizadas para conservar a integridade e a qualidade do material. Os lavados contendo ovos de *T. saginata* serviram para o preparo da solução Mãe (diluição de ovos de *T. saginata* com concentrações conhecidas do número de ovos de *T. saginata*/μL , usadas posteriormente para a padronização e comparação de técnicas.

3.1.2 preparo da solução mãe (sM) – concentrado de ovos de *T. saginata*

Em uma placa de Petri, foram dissecadas duas proglotes grávidas de *Taenia saginata* em solução fisiológica. O lavado de ovos de *T. saginata* foi recolhido em um tubo Falcon de 15 mL. Uma alíquota (100 μL) do lavado foi então disposta entre lâmina (riscada) e lamínula e analisada em microscópio óptico (M.O.) em aumento de 10X. Foram contadas 5 lâminas, para obtenção de uma média aproximada de 1600 ovos/100 μL. O tubo Falcon contendo a solução de ovos de *T.*

¹ Dicromato de Sódio P.A. (Na₂Cr₂O₇·2H₂O), Laboratório Dinâmica

² Sulfato de Zinco P.A. ACS (ZnSO₄·7H₂O), Laboratório ECIBRA

saginata, foi devidamente identificado e conservado sob refrigeração, (Figuras 1 e 2).



Figura 1: Ovos de *Taenia saginata* em aumento de 40X



Figura 2: Ovos de *Taenia saginata* em aumento de 40X

3.1.3 Preparo da solução A (sA) - Dicromato de Sódio® (Densidade: 1,350)

Foi realizada a diluição do Dicromato de Sódio® em água destilada até atingir a densidade desejada (1,350). A solução (sA) foi então armazenada em um frasco previamente identificado.

3.1.4 Preparo da solução B (sB) - Sulfato de Zinco® (Densidade: 1,180)

Foi realizada a diluição do Sulfato de Zinco® em água destilada até atingir a densidade desejada (1,180). A solução (sB) foi armazenada em um frasco previamente identificado.

3.1.5 Testes comparativos das soluções (sA e sB)

GRUPO 1: (sA) Dicromato de Sódio® (D= 1,350)

Em 4 tubos Falcon previamente identificados, foi transferido com pipeta uma alíquota de 100 µL da solução de ovos de *T. saginata* e os tubos dispostos em estante para serem completados os volumes até a marca de 14 mL do tubo com a sA. Os tubos foram devidamente fechados com tampa de rosca e colocados na centrífuga.

GRUPO 2: (sB) Sulfato de Zinco® (D= 1,180)

Em 4 tubos Falcon previamente identificados, foi transferido uma alíquota de 100 µL da solução de ovos de *T. saginata* e os tubos dispostos em estante. O volume dos tubos foram completados até a marca de 14 mL com a sB. Os tubos foram devidamente fechados com tampa de rosca e colocados na centrífuga.

GRUPO CONTROLE: Água Destilada (D= 1,000)

Em 4 tubos Falcon previamente identificados, foram colocadas uma alíquota de 100 µL da solução de ovos de *T. saginata* e dispostos os tubos em estante. O volume dos tubos foram completados até a marca de 14 mL com água destilada. Os tubos foram devidamente fechados com tampa de rosca e colocados na centrífuga.

Obs.: Grupos 1 e 2 foram processados juntos e o grupo controle separadamente

3.1.6 Centrifugação das Amostras

Foram realizadas 4 centrifugações das respectivas amostras, sendo duas a 2000 rpm (581,49 g)³ por 5 e 10 minutos e duas a 3000 rpm (1308,34 g) por 5 e 10 minutos. Após cada centrifugação, os tubos foram retirados da centrífuga e dispostos novamente em estante onde o volume de cada tubo, foi completado com auxílio de pipeta com a solução correspondente até formar um menisco sobre o qual foi disposta uma lamínula previamente desengordurada (álcool/éter). Passados 30 minutos de flutuação, as lamínulas foram retiradas uma a uma e invertidas sobre lâmina para leitura em aumento 10X. Da superfície de cada tubo foram pipetados 50 µL e disposto sobre lâmina cobrindo-se com lamínula para leitura em M.O. em aumento 10X. Da marca de 10 mL de cada tubo foram pipetados 50 µL e disposto sobre lâmina cobrindo-se com lamínula para leitura em M.O. em aumento 10X. Da marca de 5mL de cada tubo foram pipetados 50 µL e disposto sobre lâmina cobrindo-se com lamínula para leitura em M.O. aumento 10X. Do sedimento de cada tubo foram analisadas alíquotas de 50 µL entre lâmina e lamínula em M.O. em aumento de 10X.

³ $g = \frac{\text{rpm}^2}{89426} \times \text{raio}$ onde: g = gravidade raio = 13

3.1.7 Análise estatística Fase I

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, (Tabelas 1 e 2).

3.2 Fase II: Teste da sensibilidade da técnica de centrífugo-flutuação pelo Sulfato de Zinco[®] (D=1,180)

Foram realizadas diluições de ovos de *Taenia saginata* em água destilada para testar a capacidade de recuperação da técnica e comparada com o grupo controle.

3.2.1 Metodologia

Grupo 1 (G1): Sulfato de Zinco[®] Grupo Controle (GC): Água destilada

Cada grupo foi composto inicialmente por 3 cálices (250 mL) para cada diluição e para cada grupo, num total de 4 diluições de ovos de *Taenia saginata* (80 ovos/250 mL; 40 ovos/250 mL; 20 ovos/250 mL e 10 ovos/250 mL) em água destilada. Os ovos foram depositados nos cálices contendo 250 mL de água destilada. Os ovos foram primeiramente contados em 5 lâminas para atingir a concentração desejada (média de 10 ovos em 50 µL). A primeira bateria de cálices (3 cálices G1 e 3 GC) recebeu 80 ovos de *Taenia saginata*. A segunda bateria recebeu 40 ovos de *Taenia saginata*. A terceira bateria recebeu 20 ovos e a quarta bateria recebeu 10 ovos (Figura 8). Após 24h de sedimentação o sobrenadante foi aspirado com auxílio de bomba de vácuo e o sedimento transferido para tubos Falcon de 15 mL, o volume de cada tubo foi ajustado com água destilada para serem centrifugados a 3000 rpm (1308,34 g) por 10 minutos. O sobrenadante mais uma vez foi desprezado com o auxílio de bomba de vácuo restando o sedimento (5 mL). Deste sedimento, 3 alíquotas de 50 µL cada foram analisadas em microscópico óptico com os aumentos de 10 e 40X. No restante do sedimento adicionou-se Sulfato de Zinco[®] (D=1,180) G1 e água destilada no GC e foi realizada nova centrifugação a 3000rpm /10 minutos. Os tubos foram dispostos em estante, completou-se o volume com o Sulfato de Zinco[®] (G1) e água destilada (GC) até se

obter um menisco sobre o qual colocava-se lamínula. Após um tempo mínimo de 30 minutos iniciou-se a leitura das lamínulas dispostas sobre lâmina riscada para facilitar a leitura em M.O. em aumentos de 10 e 40X. Desprezou-se o sobrenadante restando um sedimento de aproximadamente 0,5 mL, o qual foi analisado entre lâmina e lamínula em M.O. em aumentos de 10 e 40X, em sua totalidade numa média de 3 lâminas. (Figura 3)



Figura 3: Diluições de ovos de *Taenia saginata* em água destilada

3.2.2 Análise estatística

A proporção de ovos recuperados das amostras em função do número de ovos presentes (depositados) foi avaliada pelo modelo de regressão quadrática. Em todas as análises foi utilizado o programa estatístico MINITAB® (versão 11).

3.3 FASE III - Pesquisa de ovos de *Taenia* spp. em amostras de água destinadas a irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu–SP, período de agosto a novembro de 2003:

Com base nas informações por setor censitário, segundo Censo Demográfico do ano de 2000, são 24 os setores censitários que em seus limítrofes fazem parte da região em estudo. Esses setores concentram 3.739 domicílios, com uma população média de 14.000 pessoas. A fonte de recebimento de água em 75

propriedades dessa região advém de poço ou nascente, dessas 16 não canalizadas e 28 propriedades recebem outra fonte de água não canalizada. Outro agravante é o tipo de escoamento sanitário, dos 3.739 domicílios, 3.707 possuem banheiro ou sanitário, onde 3.085 possuem escoamento sanitário para rede geral de esgoto ou pluvial, 340 possuem fossa séptica, 270 fossa rudimentar, 9 escoamento para vala e 1 para rio ou lago (IBGE, 2002).

3.3.1 Levantamento da região estudada

O mapeamento da região peri-urbana de Botucatu se deu através de dados obtidos pela Vigilância Sanitária do município. Foi realizado um levantamento de oitenta propriedades onde a fonte principal de abastecimento de água provinha de poço raso, sendo essas propriedades de interesse para o presente estudo, (Figura 4).

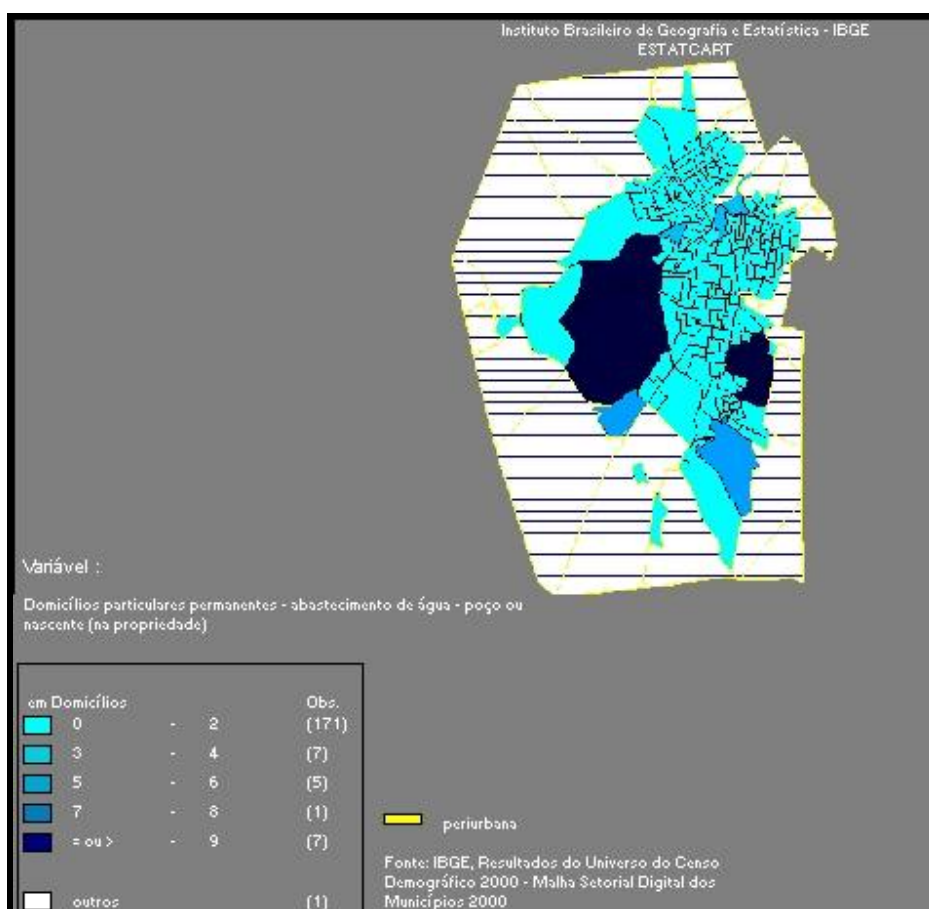


Figura 4: Mapa das regiões censitárias de Botucatu que em seus limítrofes fazem parte da região peri-urbana

Para o estudo proposto fez-se necessário que a propriedade apresentasse fontes de água para irrigação agrícola (hortas, quintal, pastagem, etc) e/ou para abastecimento de água para consumo animal, que não da rede pública, (Figuras 5; 6 e 7). Foi realizado sorteio aleatório de 20% (16) das propriedades, as quais posteriormente foram visitadas e analisadas quanto ao perfil proposto para o estudo. Das propriedades primeiramente sorteadas, foram rejeitadas cinco e novo sorteio realizado para que se atingisse o total desejado de 16 propriedades. Em cada propriedade procurou-se obter amostras de água (500 mL cada) de pelo menos dois pontos distintos de cada fonte de água encontrada. As 16 propriedades foram identificadas de A a P, sendo 30 os pontos de colheita de amostras, num total de 70 amostras analisadas, (Tabela 3).

As amostras foram colhidas em frascos de 500 mL, previamente esterilizados, acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e posteriormente transportadas para o Laboratório de Parasitologia do Instituto Biociências da Unesp – Botucatu, para seu processamento.



Figura 5: Açude captação de água para irrigação de fruticultura (Amostra A3)



Figura 6: Açude para dessedentação animal (Amostra E3)



Figura 7: Açude propriedade dessedentação animal (Amostra N1)

3.3.2 Análise das amostras de água

De posse dos resultados obtidos na fase anterior, optou-se pela utilização da técnica de centrífugo-sedimentação com Sulfato de Zinco[®] (D= 1,180), para análise das amostras de água.

As amostras (500 mL) de água ao chegarem ao laboratório eram transferidas para dois cálices de 250 mL (duplicata), para sedimentação espontânea por 24 horas. Após 24h de sedimentação o sobrenadante foi aspirado com auxílio de bomba de vácuo e o sedimento transferido para tubos Falcon de 15 mL, o volume de cada tubo foi ajustado com água destilada para serem centrifugados a 3000 rpm (1308,34 g) por 10 minutos. O sobrenadante mais uma vez foi desprezado com o auxílio de bomba de vácuo restando o sedimento (5 mL). Deste sedimento 3 alíquotas de 50 µL cada foram analisadas em microscópico óptico aos aumentos de 10 e 40X. No restante do sedimento adicionou-se Sulfato de Zinco[®] (D=1,180). Os tubos foram dispostos em estante completou-se o volume com o Sulfato de Zinco[®] até se obter um menisco sobre o qual colocava-se lamínula. Após um tempo mínimo de 30 minutos iniciou-se a leitura das lamínulas dispostas sobre lâmina riscada para facilitar a leitura em M.O. em aumentos de 10 e 40X. Desprezou-se o sobrenadante restando um sedimento de aproximadamente 0,5 mL o qual foi analisado entre lâmina e lamínula em M.O. em aumentos de 10 e 40X, em sua totalidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 FASE I: Determinação e padronização das técnicas de recuperação de ovos de *Taenia saginata*

Os parâmetros avaliados foram: força centrífuga, tempo de centrifugação, flutuação e sedimentação, num total de quatro observações, 2000rpm (581,49 g)/5', 2000rpm/10', 3000rpm (1308,34 g)/5' e 3000rpm/10', sendo realizadas cinco leituras por tubo (L1 lamínula de flutuação, L2 50 µL da superfície do tubo, L3 50 µL da marca de 10 mL do tubo, L4 50 µL da marca de 5 mL do tubo, L5 50 µL do sedimento).

TABELA 1: Estudo comparativo entre as técnicas de centrífugo-flutuação pelo uso do Sulfato de Zinco® e Dicromato de Sódio® quanto a sensibilidade na recuperação de ovos de *Taenia saginata* – Lamínula de flutuação (L1). Amostras artificialmente contaminadas com aproximadamente 1600 ovos de *T. saginata*

	Dicromato de Sódio® L1	Sulfato de Zinco® L1	Água Destilada L1	P
OBS	Média	Média	Média	
2000rpm*/5'	5,75 a	19,50 b	2,00 a	0,0051
2000rpm/10'	8,50 a	20,00 b	1,00 c	0,0000
3000rpm**/5'	4,50 a	34,50 b	0,00 a	0,0000
3000rpm/10'	14,75 a	43,75 b	0,50 a	0,0053

*581,49 g **1308,34 g

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey.

TABELA 2: Estudo comparativo entre as técnicas de centrífugo-flutuação pelo uso do Sulfato de Zinco® e Dicromato de Sódio® quanto a sensibilidade na recuperação de ovos de *Taenia saginata* – Sedimento (L5). Amostras artificialmente contaminadas com aproximadamente 1600 ovos de *T. saginata*

	Dicromato de Sódio® L5	Sulfato de Zinco® L5	Água Destilada L5	P
OBS	Média	Média	Média	
2000rpm*/5'	82,25 a	222,25 a	187,50 a	0,0687
2000rpm/10'	91,50 a	113,25 a	132,75 a	0,6479
3000rpm**/5'	130,00 ab	172,00 b	82,25 a	0,0313
3000rpm/10'	183,00 ab	199,50 b	87,75 a	0,029

*581,49 g **1308,34 g

Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey.

Os resultados para L2, L3 e L4 variaram de zero a quinze ovos recuperados, não tendo valor estatisticamente significativo. Os melhores resultados em relação à L1 (flutuação) foram obtidos com a solução de Sulfato de Zinco®. No

entanto, nos três grupos o maior número de ovos foi recuperado no sedimento havendo diferença estatística entre eles (Tabela 2).

4.2 FASE II: Teste da sensibilidade da técnica de centrífugo-flutuação pelo Sulfato de Zinco® (D=1,180)

Nas figuras 8 e 9, estão expressos os resultados da análise de regressão referentes às técnicas aplicadas com água destilada e Sulfato de Zinco® (D=1,180) respectivamente. O número de ovos recuperados, utilizando-se água destilada, foi proporcional ao número de ovos depositados e o coeficiente de correlação foi de 0,98 ($p < 0,0001$). O mesmo aconteceu no sedimento com Sulfato de Zinco® tendo um coeficiente de correlação de 0,97 ($p < 0,0001$).

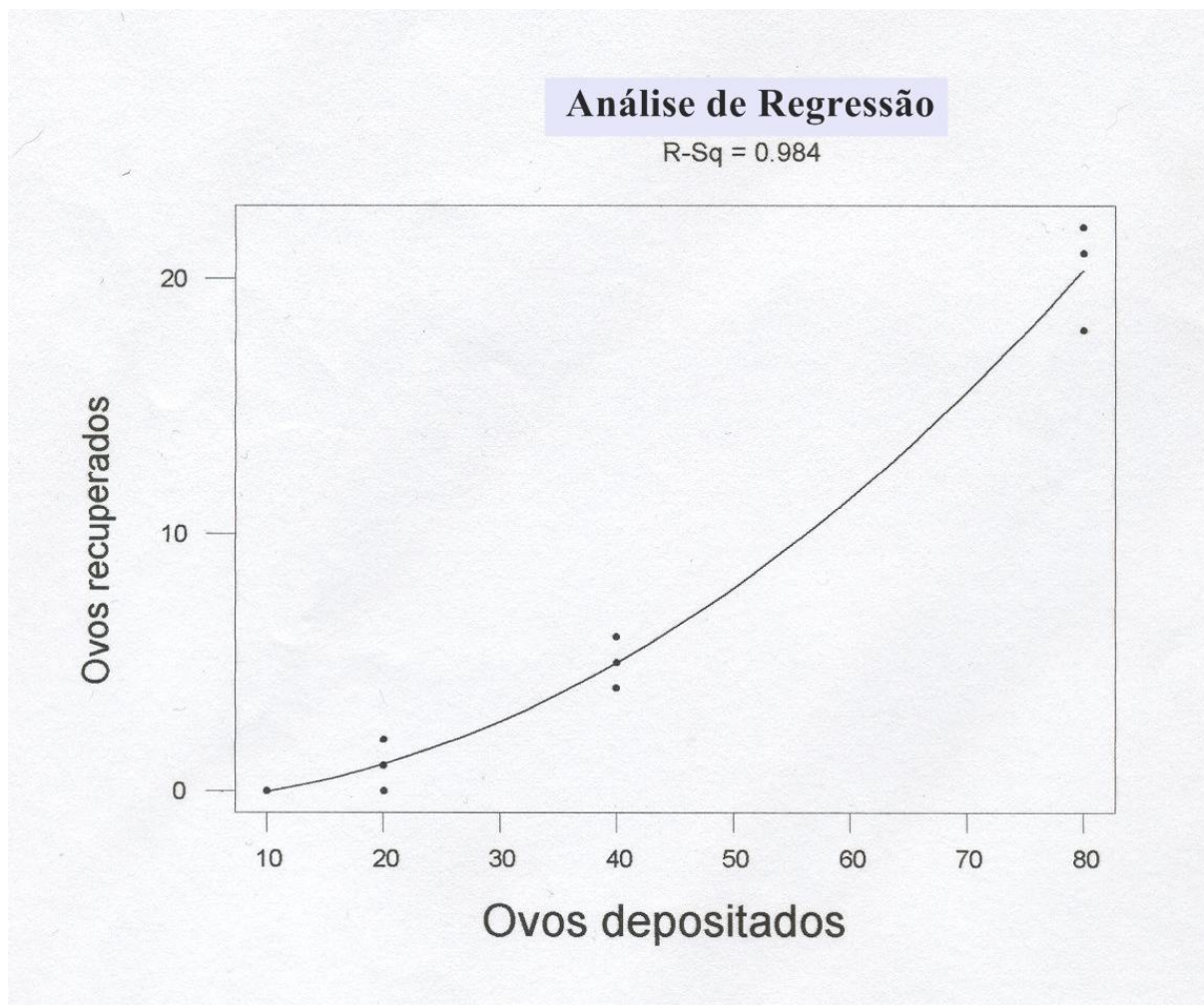


Figura 8: Análise de regressão referente à técnica de sedimentação com água destilada (D=1,000)

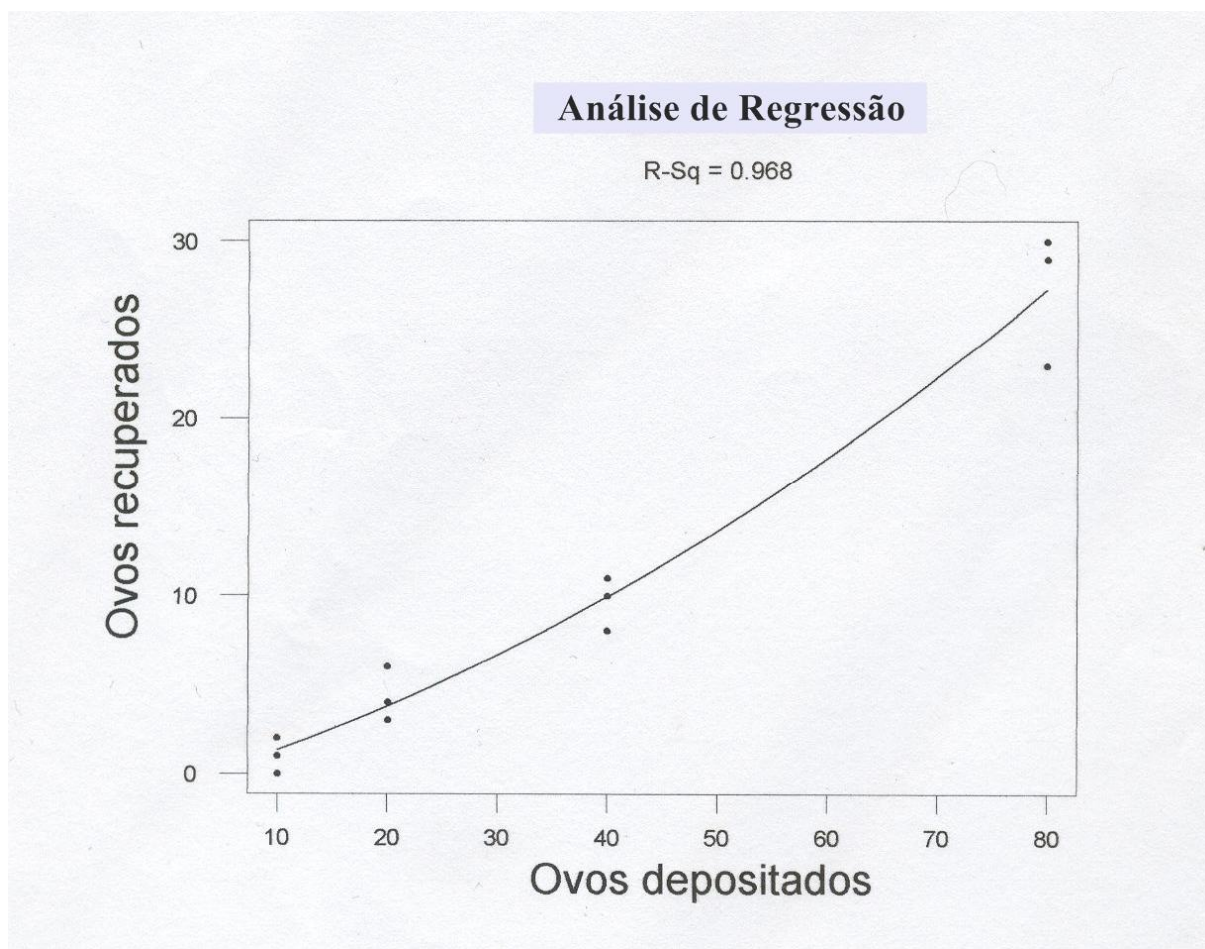


Figura 9: Análise de regressão referente à técnica de sedimentação com Sulfato de Zinco[®] (D=1,180)

Em parasitologia as metodologias descritas até os anos 50 tinham como objetivo pesquisar ovos de helmintos nas fezes de humanos ou animais e tinham como princípio a centrifugo-sedimentação, seguido de flutuação. Para a flutuação dos ovos, diferentes técnicas podem ser usadas, dentre elas, podem ser citadas: formol-éter, concentração por sulfato de zinco, flutuação em açúcar. Posteriormente, com o tratamento de esgoto iniciou-se uma nova fase onde novas técnicas são necessárias para a recuperação de ovos de helmintos do lodo e estudo da viabilidade dos mesmos, após os processos de tratamento biológico ou químico (MANUAL², 2000).

A maioria dos procedimentos visa a concentração de ovos e larvas de helmintos nas amostras, através de técnicas como sedimentação espontânea (COELHO et al., 2001).

A avaliação das técnicas de centrifugo flutuação utilizando as soluções de Sulfato de Zinco[®] e Dicromato de Sódio[®] comparadas a água destilada (controle), teve por objetivo analisar possível interferência quanto ao gradiente de concentração, ou ainda, a viscosidade da solução utilizada. Diante dos estudos observados, verificou-se a necessidade de aprimorar ainda mais as técnicas existentes com o intuito de suprir possíveis falhas de diagnóstico.

Cinco leituras (L) foram realizadas em cada tubo Falcon de 15 mL: L1 – ovos que flutuaram e aderiram em lamínula; L2 – ovos em 50 µL da solução da superfície do tubo; L3 – ovos em 50 µL da marca de 5mL do tubo; L4 - 50 µL da marca de 10mL do tubo e L5 - 50 µL do sedimento. Os resultados para L2, L3 e L4 variaram de zero a quinze ovos recuperados, não tendo valor estatisticamente significativo, o que rejeita a possibilidade de interferência do parâmetro viscosidade.

Foi avaliado o parâmetro densidade das soluções, Sulfato de Zinco[®] (D=1,180) e Dicromato de Sódio[®] (D=1,350). Os melhores resultados em relação à L1 (flutuação) foram obtidos com a solução de Sulfato de Zinco[®]. Esperava-se que uma solução mais densa (Dicromato de Sódio[®]) facilitaria a flutuação dos ovos.

No entanto, nos três grupos o maior número de ovos foi recuperado no sedimento não havendo diferença estatística entre eles. A força e o tempo de centrifugação não interferiram na quantidade de ovos recuperados no sedimento (L5) ou na lamínula (L1), ($p>0,05$). Descartando a possível interferência dos parâmetros viscosidade e densidade, e constatando que a maior parte dos ovos depositados nas amostras encontram-se no sedimento independente da solução utilizada. Em face disso surgiu a hipótese de haver a interferência da condutividade elétrica (carga elétrica dos ovos X carga elétrica das soluções), onde, caso sendo cargas opostas, essas se ligariam formando micelas e por peso iriam se depositar no sedimento. Essa hipótese não foi testada, sendo alvo de novos estudos.

4.3 FASE III: Pesquisa de ovos de *Taenia* spp. em amostras de água destinadas à irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu–SP, período de agosto a novembro de 2003

Nesta fase foram obtidos os resultados referentes às análises das amostras de água do experimento, conforme mostra a Tabela 3.

TABELA 3: Resultados da análise parasitológica das amostras de água destinadas a irrigação agrícola e/ou consumo animal na região peri-urbana de Botucatu–SP, período de agosto a novembro de 2003

LOCAL	PONTO COLHEITA	Nº DE AMOSTRAS	RESULTADO
A	A1 Poço raso	1	Ovos de <i>Ascaris</i> sp.; oocistos de protozoários
	A2 Poço raso caixa d'água	1	Ácaro
	A3 Açude bomba irrigação	3	Ovo tipo <i>Strongyloides</i> ; ovo de <i>Capilaria</i> sp.; ovo de <i>Toxocara</i> sp.
	A4 Manancial vazão açude	3	3 ovos de <i>Taenia</i> spp. ; ácaro; oocistos de protozoários; ovo tipo <i>Strongyloides</i>
B	B1 Poço raso	1	Cistos e oocistos de protozoários
C	C1 Poço raso	1	---
D	D1 Caixa d'água dessedentação animal	2	Ácaro
	D2 bebedouro 1 dessedentação animal	2	Ácaro; oocistos de protozoários;
	D3 bebedouro 2 curral	2	Ácaro; oocistos de protozoários; ovo de <i>Toxocara</i>
E	E1 água de mina	2	---
	E2 mina + vertente depósito	2	---
	E3 reservatório dessedentação animal	3	Larvas de mosquitos; microcrustáceo;
	E4 açude peixes	3	Cistos e oocistos de protozoários
	E5 canal escoamento para reservatório	2	Larva de nematódeo; microcrustáceo
F	F1 Rio Lava Pés I	3	Larva de helmintos; ovo de <i>Alaria</i> sp.; oocistos de protozoários; ácaro
	F2 Esgoto Rio Lava Pés	3	Larva de helmintos; ovo de <i>Alaria</i> sp.; oocistos de protozoários.
G	G1 Rio Lava Pés II	3	Ácaro; oocistos de protozoários; cistos de <i>Giardia</i> sp.
H	H1 Rio Lava Pés III	3	Oocistos protozoários; cistos de <i>Giardia</i> sp.
I	I1 Poço raso	1	Ácaro
	I2 Córrego	3	Cistos e oocistos de protozoários
J	J1 Poço raso	1	---
	J2 Açude	3	Ovos de <i>Ascaris</i> sp.; Ovos tipo <i>Strongyloides</i> sp.
K	K1 Rio garagem prefeitura	3	Ácaro; cistos e oocistos de protozoários; cistos de <i>Giardia</i> sp.
	K2 Córrego garagem pref.	3	Cistos e oocistos de protozoários
L	L1 Açude propriedade	3	Ovos tipo <i>Strongyloides</i> sp.; <i>Entamoeba</i> sp.
M	M1 Açude, captação para irrigação	3	Ovos de <i>Ascaris</i> sp.; ovos tipo estrongiliformes; ácaro; larvas de nematódeos
N	N1 Açude dessedentação animal	3	<i>Entamoeba</i> sp.; <i>Strongyloides</i> sp.; protozoários de vida livre
O	O1 Córrego dessedentação animal	3	Ovos tipo <i>Strongyloides</i> sp.; ácaro; oocistos <i>Eimeria</i> sp.
P	P1 Poço raso	1	---
	P2 Córrego irrigação hortaliças	3	Ovos de <i>Ascaris</i> sp.; cistos de protozoários
16	30 pontos de colheita	70	3 ovos de <i>Taenia</i> spp.

No presente estudo foram encontrados 3 ovos de *Taenia* spp. (Figura 10), recuperados de amostras de água colhidas de um manancial que dá vazão para um açude de onde é captada água para irrigação de pomares e serve também para dessedentação animal. Esse pequeno número de ovos encontrados reforça a necessidade de novas colheitas de água na propriedade e arredores da mesma. Outras formas parasitárias foram encontradas nas amostras de água que compuseram o experimento, dentre elas, ovos e larvas de helmintos em números variados, ácaros, cistos e oocistos de protozoários, entre outros de menor interesse em saúde pública, mas de grande valia para se obter um perfil parasitológico da região peri-urbana do município de Botucatu.



Figura 10: Ovo de *Taenia* spp. em aumento de 40X(amostra A4)

COSTA et al. (1982), em estudo para caracterizar as águas de irrigação da microrregião homogênea de Catole do Rocha (MRH-89) no Estado da Paraíba, com base em 160 amostras de águas de diferentes fontes, colhidas nas épocas chuvosas e seca, concluiu que, via de regra, o Na^+ predomina em relação ao Ca^{++} e Mg^+ . No entanto, na época chuvosa, com a diminuição da concentração de sais nas águas, em alguns municípios pode ser verificado o contrário, sobretudo onde as concentrações de HCO_3^- eram maiores do que as de Cl^- .

O mesmo aconteceria analisando-se diferentes amostras de água utilizadas para a irrigação onde a condutividade elétrica variável poderia interferir com a carga elétrica das possíveis formas parasitárias.

DIAS et al. (1991), pelos métodos da sedimentação espontânea diagnosticou 7.663 (0,5%) casos de presença de ovos de *Taenia* spp. nas fezes humanas. Das 355 proglotes enviadas para identificação, 311 (87,60%) estavam em condições de serem especificadas, e dessas, 273 (87,80%) eram proglotes de *Taenia saginata* e 38 (12,22%) de *Taenia solium*, conforme estudos realizados entre os anos de 1969 a 1970.

Vários trabalhos de pesquisa, realizados no Brasil, assinalam a presença de ovos de helmintos ou cistos de protozoários em vegetais que são consumidos crus. Todavia, muitos autores não realizam teste de viabilidade ou de infectividade destes ovos ou cistos. Esse parâmetro é fundamental para determinar os riscos de infecção humana (SOCCOL & PAULINO, 2000).

Os três ovos de *Taenia* spp. encontrados nas amostras de água analisadas não puderam ser submetidos à técnica de viabilidade devido ao pequeno número recuperado. Para a possível determinação da viabilidade dos ovos de *Taenia* spp. foi estudada anteriormente e testada a técnica descrita por OWEN (1984), que se baseia na digestão enzimática do embrióforo seguido de ativação do embrião hexacanto. Esta técnica teria aplicação no presente estudo, caso o número de ovos recuperados tivessem sido maior, pois para a realização da mesma, faz-se necessário um “pool” de ovos.

Alimentos que estão em contato direto com águas contaminantes e são consumidos crus, constituem fontes prováveis de formas parasitárias e merecem especial atenção, principalmente nos países em desenvolvimento, onde o estado nutricional da população é precário, interferindo diretamente nas condições imunológicas dos indivíduos. Crianças, imunodeprimidos e debilitados são considerados grupos susceptíveis, favorecendo o aparecimento dessas enfermidades (PACHECO, 2002).

Os resultados obtidos na análise parasitológica das 70 amostras de água colhidas nas 16 localidades da região peri-urbana de Botucatu – SP demonstram o risco potencial para a saúde humana e/ou animal, tendo em vista não somente os ovos de *Taenia* spp. encontrados, alvo do presente estudo, mas também por terem

sido recuperados outras formas parasitárias (cistos e oocistos de protozoários, entre eles *Giardia* sp., ácaros, *Ascaris* sp., entre outros) de grande importância em saúde pública.

As medidas aplicáveis ao ambiente objetivam evitar a dispersão de ovos sendo baseadas, primordialmente, na educação sanitária. Esta tem como objetivo a orientação da população quanto ao destino adequado das excretas humanas, evitando a contaminação da água, solo e alimentos, e também quanto a se evitar o uso de efluentes de esgotos para a irrigação de pastagens (GERMANO & GERMANO, 2001).

5 CONCLUSÕES

As águas residuárias da região peri-urbana de Botucatu – SP, podem oferecer risco potencial para a saúde humana e/ou animal, tendo em vista não somente os ovos de *Taenia* spp. encontrados, alvo do presente estudo, mas também por terem sido recuperados outras formas parasitárias de grande relevância em saúde pública.

O estudo comparativo de técnicas demonstrou uma realidade até então pouco questionada, quanto a sensibilidade e aplicabilidade das mesmas.

Os resultados obtidos alertam para a necessidade de pesquisas futuras, visando salvaguardar a saúde população envolvida.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N., SZYFRES, B. Teniasis y Cisticercosis. In: _____. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2.ed. Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1986. p.763-74 (Publicación científica, 503)

ALMEIDA, L.P. et al., Enteroparasitas em Familiares de pequenos produtores de leite – Viçosa, MG. **Rev. Higiene Alimentar**, v. 13, n. 65, p. 37-42, 1999.

AYRES, R.S.; WESTCOT, D.W. **A qualidade da água na agricultura**. Campina Grande : UFPB, 1991. 218 p. (Estudos FAO. Irrigação e drenagem, 29, Revisado)

BASTOS, R. K. X. Fertirrigação com águas residuárias. In: **FERTIRRIGAÇÃO: citrus, flores, hortaliças**. Marcos Vinícius Folegatti, coord. GUAÍBA: AGROPECUÁRIA, 1999. 460p.

BETTIOL, W. & CAMARGO, O.A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. 312p.

BIONDI, G.F., HENRIQUE, C.H., OLIVEIRA, A.C., *et al.* Avaliação da eficiência da prova de evaginação em metacestódeos de *Taenia saginata* / *Evolution of evagination test efficiency for taenia saginata metacestodes*. **Rev. educ. contin. CRMV-SP / Continuous Education Journal CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, fascículo 1, p. 049-054, 2000.

COELHO, L.M.P.S., OLIVEIRA, S.M., MILMEN, M.H.S.A., KARASAWA, K.A., SANTOS, R.P. Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, São Paulo, v.34, p.479-82, 2001.

COLLINS, G.H., POPPE, S.E. *Cysticercus bovis* in cattle in new South Wales. **Aust. Vet. J.** 1990, v.67, p.229-8-9

CORREIO POPULAR, **Dia Mundial da Água**. Campinas, segunda-feira, 22 de março de 2004. 8p.

CÔRTEZ, J. A. Complexo teníase humana – cisticercose bovina e suína. II – Cisticercose bovina e suína. **Cont. Educ. J. CRMV – SP**. 2000, v.3, p.61-71

CÔRTEZ, J.A. Epidemiologia do processo de teníase humana – cisticercose. **Comum. Cient. Fac. Méd. Vet. Zootecn. Univ. S. Paulo**. 1984, v.8, p.231-41

COSTA, R.G.; CARVALHO, H.O.; GHEYI, H.R. Qualidade da água de irrigação da microrregião de Catole do Rocha – PB. **Rev. Bras. Ci. Solo**. Campinas, v.6, p.242-244, 1982.

DIAS, R. M. D. S., DA SILVA, M. I. P. G., MANGINI, A. C. S., VELLOSO, S. A. G., TORRES, D. M. A. G. V., DA SILVA, R. M., VAZ, A. J. Ocorrência de *Taenia* sp na população atendida no Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil (1960-1989). **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v.58, p.99-100, 1991.

FLISSER, A., PLANCARTE, A., CORREA, D., et al. New approaches in the diagnosis of *Taenia solium* cysticercosis and taeniasis. **An. Parasitol. Hum. Comp.** 1990, v.65, p.95-8

FREITAS, J.A., PALERMO, E.N. Complexo teníase-cisticercose. Avaliação parcial da situação no Estado do Pará. **Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.33, p.270-75, 1996.

GERMANO, P.M.L. & GERMANO, M.I.S. Cisticercose bovina. In: _____. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. 1º ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. p.317-321.

GHEYI, H.R.; de MEDEIROS; J.F.; SOUZA, J.R. de. A qualidade da água de irrigação. In: **FERTIRRIGAÇÃO: citrus, flores, hortaliças**. Marcos Vinícius Folegatti, coord. GUAÍBA: AGROPECUÁRIA, 1999. 460p.

GHIGLIETTI, R., GENCHI, C., DI MATTEO, L., CALCATERRA, E., COLOMBI, A., Survival of *Ascaris suum* eggs in ammonia-treated wastewater sludges. **Bioresource Technol.** Great Britain, v.59, p.195-8, 1997.

HOBERG, E.P. Taenia tapeworms: their biology, evolution and socioeconomic significance. **Microbes and infection: a Journal on infectious Agents and Host Defenses**, Beltsville, 2002 (In Press).

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Resultados do Universo do Censo Demográfico 2000 – Malha Setorial Digital dos Municípios 2000. ESTATCART, 2002.

LOURENÇO, A.E.P., UCHOA, C.M.A., BASTOS, O.M.P., Enteroparasitoses em Manipuladores de Alimentos de Hospitais da Cidade de Niterói, RJ, Brasil. **Rev. Higiene Alimentar**, v.16, n. 97, p.16-21, 2002.

MACHADO, M.I. Teníase. In: CIMERMAN, B., CIMERMAN, S. **Parasitologia humana e seus fundamentos gerais**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, p.228-34, 2002.

MAGALHÃES, N.F., NUNES, A.B.A., OVRUSKI DE CEBALLOS, B.S., KONIG, A. Principais impactos nas margens do baixo Rio Bodocongó – PB, decorrentes da irrigação com águas poluídas com esgotos. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27, 2001, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ABES, 2001. p.1-10.

MANUAL¹ de Saneamento. 3 ed. Brasília: Ministério da Agricultura: Fundação Nacional da Saúde. 1999. 374 p.

MANUAL² de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto. **Companhia de Saneamento do Paraná.** 2 ed. rev. e ampl. Curitiba: SANEPAR, 2000.

MORAES, A.C.R. O lixo e as águas. **Ciência & Ambiente** / Universidade Federal de Santa Maria. Editora da UFSM – v. 1, n. 18. Santa Maria: jan/jun 1999.

NEVES. D. P. Teníase e Cisticercose. In: _____. **Parasitologia Humana.** 6ª ed. São Paulo, 1986. p.209-19.

ORYAN, A., MOGHADDAR, N., GAUR, S.N.S. *Taenia saginata* cysticercosis in cattle whit special reference to its prevalence, pathogenesis and economic implications in fars province of Iran. **Vet. Parasitol.**, v. 57, p.319-27, 1995.

OWEN, R.R. The effectiveness of chemical disinfection on parasites in sludge. **Stab. Disinfection of Sewage Sludge.** , v.23 p.1-13, 1984.

PACHECO, M.A.S.R. et al., Condições Higiênico-Sanitárias de Verduras e Legumes Comercializados no Ceagesp de Sorocaba-SP. **Rev. Higiene Alimentar**, v.16, n.101, p. 50-55, 2002.

PAGANINI, W. S. **Disposição de esgoto no solo.** 2 ed. São Paulo: Fundo Editorial da AESABESP, 1997. 233 p.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1992. cap. 21, p.186-93

REY, L. Tênia e teníase. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 519p.

SILVA, C.G.M. et al., Enteroparasitas em vegetais: uma revisão. **Rev. Higiene Alimentar**, v.17, n.109, p.13-18, 2003.

SILVA, V. de P. Águas Servidas: uma alternativa viável. Disponível na internet em 03/12/2003: <http://www.ufrpe.br/artigos/artigo-02.html>

SOCOL, V.T. & PAULINO, R.C. Riscos de contaminação do agroecossistema com parasitos pelo uso do lodo de esgoto. In: BETTIOL, W. & CAMARGO, O.A. **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p.245-58

TAKAYANAGUI, O.M.; FEBRÔNIO, L.H.P; BERGAMINI, A.M.; et al. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical**. 33(2):169-174, mar-abr, 2000.

TANJI, K.K.; ENOS, C.A. Global water resources and agricultural use. In: TANJI, K.K.; YARON, B. **Management of water use in agriculture**. Berlin: Springer-Verlag. 1994. 320p.

UNGAR, M.L., GERMANO, P.M.L., Epidemiologia e controle da cisticercose bovina. **Comum. Cient. Fac. Med. Vet . Zootec. Univ. S. Paulo**, v.15, n. 1, p. 15-20, 1991.

VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2002, v.2, 1785p.

VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1996, v.2, 1765p.

ZAMPINI, L.M. Cisticercose Bovina no Paraná no período de 1982 a 1988. **Hig. Alimentar**, 1994, v.8, p.24-5