

# Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana\*

## *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* Cysts: Environmental Circulation and Health Risks

**Léo Heller**

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/  
Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG

**Rafael Kopschitz Xavier Bastos**

Departamento de Engenharia Civil/Universidade Federal  
de Viçosa, Viçosa-MG

**Maria Berenice Cardoso Martins Vieira**

Fundação Ezequiel Dias/Laboratório Central de Saúde  
Pública, Lacer- MG

**Paula Dias Bevilacqua**

Departamento de Medicina Veterinária/Universidade  
Federal de Viçosa, Viçosa-MG

**Ludmila Ladeira Alves de Brito**

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos  
Naturais Renováveis-Ibama, Belo Horizonte-MG

**Santana Maria Marinho Mota**

Fundação Nacional de Saúde-Funasa  
Serviço de Vigilância Epidemiológica da Prefeitura  
Municipal de Viçosa-MG

**Adriana Aguiar Oliveira**

Departamento de Medicina Veterinária/Universidade  
Federal de Viçosa, Viçosa-MG

**Patrícia Maria Machado**

Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio  
Ambiente e Recursos Hídricos/Universidade Federal de  
Minas Gerais, Belo Horizonte-MG

**Daniella Pedrosa Salvador**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
Tecnológico-CNPq – Bolsista de Apoio Técnico

**Allisson Badaró Cardoso**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e  
Tecnológico-CNPq – Bolsista de Iniciação Científica

### Resumo

Embora a presença de protozoários em águas para consumo humano revele-se como um importante problema de Saúde Pública em diversos países, o conhecimento sobre esses riscos, no Brasil, ainda é escasso. Em vista dessa lacuna, apresentam-se, neste trabalho, informações que ajudam a compor e explicar a circulação no ambiente e a importância epidemiológica de oocistos de *Cryptosporidium* e de cistos de *Giardia*. A metodologia do trabalho incluiu: uma varredura da presença dos (oo) cistos em diferentes mananciais de abastecimento, em amostras de esgotos sanitários, em fezes de animais e humanas; a pesquisa da sua presença em hortaliças; a avaliação da eficiência de instalações de tratamento de água – em escala-piloto e em escala real – na remoção desses microrganismos; e a sua presença em águas de consumo após filtração. Foram identificadas: elevadas concentrações dos protozoários em mananciais abastecedores; a sua presença na água filtrada de estações de tratamento existentes e em efluentes de filtros lentos (ensaios em escala-piloto), em que pese a boa eficiência do processo na remoção; uma elevada densidade nos esgotos sanitários e em fezes de animais contaminados; além de uma considerável prevalência nas fezes de um contingente populacional urbano estudado. O estudo traz evidências do expressivo risco à saúde humana representado pelos protozoários no ambiente e reúne inéditas informações para subsidiar avaliações de riscos à saúde, sobretudo na perspectiva de validação das premissas adotadas pela Portaria Nº 518/2004, sobre potabilidade da água.

**Palavras-chave:** *Cryptosporidium*, *Giardia*; água; filtração; fezes.

### Summary

*The presence of protozoa in drinking water is recognised as an important public health hazard in many countries; nevertheless the knowledge about this issue in Brazil is still sparse. In this regard, this paper gathers information that help to explain the environmental circulation and epidemiological importance of Giardia and Cryptosporidium (oo) cysts, including: their occurrence in surface water (source water), sewage, human and animal faeces; their occurrence in commercial crops; the evaluation of protozoa removal by water treatment; and presence in filtered effluents. High protozoa concentration in source waters were found, as well as its presence in filtered effluent of existing water treatment plants and pilot slow sand filters, regardless of a general high removal efficiency. Protozoa cysts and oocysts were also found, in high densities, in wastewater and in faeces of contaminated animals. In addition, a relatively high prevalence in faeces of an urban population studied. The study shows evidence of the expressive human health risk represented by the occurrence of this protozoa in several environments and brings unpublished information to strengthen health risk evaluation, and the discussion about the validation of premises adopted in the Brazilian drinking water guidelines (Decree No 518/2004).*

**Key words:** *Cryptosporidium*; *Giardia*; water; filtration; faeces.

\* Pesquisa demandada por meio de edital e apoiada com recursos do projeto Vigisus, Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde.

**Endereço para correspondência:**

Av. Contorno, 842, 7º andar, Belo Horizonte-MG. CEP: 30110-060  
E-mail: heller@desa.ufmg.br

## Introdução

Giardiase é uma doença reconhecidamente associada com águas de abastecimento para consumo humano. Recentemente, principalmente nos Estados Unidos da América (EUA), surtos de criptosporidiose também vêm sendo relacionados com essa via de transmissão.<sup>1,2</sup>

Em que pesem as incertezas quanto aos riscos reais de saúde impostos pela presença de reduzidas densidades de protozoários em águas tratadas, as evidências disponíveis têm concentrado novas atenções – no caso, de *Cryptosporidium* – e reacendido outras – no caso, de *Giardia* – quanto à necessidade de se aprofundarem os conhecimentos sobre as fontes de contaminação, a distribuição de protozoários em mananciais de abastecimento e a eficiência de remoção desses organismos pelos processos de tratamento.<sup>2</sup> Considerável atenção e recursos têm sido direcionados para esclarecer a epidemiologia dessas doenças e limitar a propagação desses organismos.<sup>3-5</sup>

O registro de surtos de doenças transmitidas pela água devido a protozoários e outros agentes etiológicos têm aumentado nos EUA, nos últimos 20 anos, mesmo com regulamentos e medidas cada vez mais restritivos. Durante o período de 1971 a 1985, 502 surtos, provocando 111.228 casos de doenças, foram reportados pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e pela United States Environmental Protection Agency (USEPA). Desses surtos, 92 (18,3%), envolvendo 24.365 indivíduos, foram atribuídos ao protozoário parasita *Giardia lamblia*, transformando-o na causa identificável predominante das doenças transmitidas pela água. Vale ressaltar que em apenas 50% dos casos foram identificados os agentes responsáveis.<sup>3</sup>

O primeiro relato sobre surto de criptosporidiose em humanos devido ao abastecimento de água ocorreu em San Antonio, no Texas, em 1984, concomitantemente a um surto de vírus Norwalk. O segundo maior surto norte-americano ocorreu em Carrolton, Geórgia, em 1987, onde aproximadamente 13.000 pessoas foram afetadas. Em 1988, em Ayrshire, no Reino Unido, um acidente envolvendo uma pós-contaminação no reservatório de água de abastecimento – infiltração de dejetos de bovinos utilizados como fertilizantes –, provocou um surto de grande importância, devido ao número de internações (44,4%), sugerindo, talvez, a presença de uma cepa mais virulenta.<sup>3,4,6</sup> Em abril de 1993, ocorreu o maior surto até

então registrado nos EUA, em Milwaukee, Wisconsin, afetando 400.000 pessoas. Um aumento dramático na incidência de criptosporidiose evidenciou que oocistos de *Cryptosporidium* podem sobreviver aos processos convencionais de tratamento da água e atraiu muita atenção do meio técnico-científico norte-americano.<sup>6-8</sup>

Diversos trabalhos têm registrado a presença de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em águas tratadas,<sup>9-11</sup> embora, em muitos desses estudos, a maioria dos protozoários não se encontrasse em formas viáveis, ou seja, apresentado em formas não infectantes.

Exemplo bastante ilustrativo é o do trabalho de Smith e colaboradores,<sup>5</sup> em que se demonstra a ocorrência dos protozoários em diversas amostras de águas de abastecimento, submetidas a tratamentos distintos, em diferentes áreas do mundo. O estudo releva a importância do problema, mesmo que não tenha indicado evidências epidemiológicas de transmissão, o que pode ser creditado ao não-reconhecimento da doença e/ou infecção, em razão dos procedimentos de vigilância em prática.<sup>5-12</sup>

*Os potenciais riscos à saúde humana decorrentes da presença dos protozoários na água de abastecimento tiveram sua expressão na Portaria Nº 518/2004, que estabelece os padrões de potabilidade da água.*

Cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* apresentam, respectivamente, dimensões de aproximadamente 8-15 µm e 4-6 µm. São, portanto, potencial e significativamente removíveis por filtração. Apesar de ambos possuírem características similares de sedimentação e filtração, pelas próprias dimensões, a remoção de oocistos de *Cryptosporidium* por filtração é algo inferior à de cistos de *Giardia*. Entretanto, *Giardia* e *Cryptosporidium* são – principalmente o segundo – organismos reconhecidamente resistentes à cloração e a eficiência da remoção de oocistos por desinfecção ainda é pouco conhecida.<sup>10</sup>

Diversas publicações<sup>9,11,13,14</sup> ilustram, satisfatoriamente, o estado do conhecimento quanto à eficiência do tratamento, conforme os itens resumidos a seguir:

- Sistemas de tratamento com filtração rápida (ciclo completo ou filtração direta), bem operados e produzindo um efluente com valor  $\leq 0,5$  UNT (unidade nefelométrica de turbidez), e sua complementação por desinfecção, podem alcançar um resultado conjunto de remoção e inativação de  $3,0 \log_{10}$  (99,9%) de cistos de *Giardia*.
- Sistemas de tratamento com filtração lenta, bem operados e produzindo um efluente com  $\leq 1,0$  UNT, e sua complementação por desinfecção, podem alcançar um resultado conjunto de remoção e inativação de  $3,0 \log_{10}$  (99,9%) de cistos de *Giardia*.
- Sistemas de filtração rápida (ciclo completo ou filtração direta), bem operados e produzindo um efluente com valor  $\leq 0,3$  UNT, podem alcançar um resultado de remoção de  $2,0 \log_{10}$  (99%) de oocistos de *Cryptosporidium*.
- Sistemas de tratamento com filtração lenta, bem operados e produzindo um efluente com valor  $\leq 1,0$  UNT, podem alcançar um resultado de remoção de  $2,0 \log_{10}$  (99 %) de oocistos de *Cryptosporidium*.

Para a satisfação do grau de risco aceitável nos EUA (uma infecção anual por 10.000 habitantes),<sup>15,16</sup> as concentrações máximas de *Giardia* e *Cryptosporidium* deveriam ser, respectivamente, de  $7 \times 10^{-6}$  cistos/L e  $3 \times 10^{-5}$  oocistos/L, o que é, obviamente, de difícil detecção.

Considerando as eficiências usuais esperadas de sistemas de filtração, é de se supor que, mesmo em sistemas otimizados, o incremento da concentração de protozoários na água bruta delegue à desinfecção, ainda, uma boa parte da responsabilidade pela prevenção dos riscos de saúde, em que pese a reconhecida limitação da cloração na inativação de cistos e oocistos – principalmente de oocistos.

De fato, concentrações mais elevadas de protozoários na água bruta têm sido associadas a concentrações igualmente mais elevadas, ou à maior frequência de detecção, no efluente final. De maneira análoga, variações sazonais ou elevações bruscas na densidade de protozoários na água bruta podem provocar igual resultado na água tratada<sup>10</sup>; por isso, o monitoramento da água bruta é visto, em si, como um importante instrumento de controle e vigilância da qualidade da água tratada.

Nos EUA, intensos programas de monitoramento de águas superficiais vêm sendo implementados, sen-

do freqüente a ocorrência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em faixas de densidades tão amplas quanto 0,02-43,0 cistos/L e 0,065-65 oocistos/L, respectivamente.<sup>1,10,17,18</sup>

Cabe registrar que giardíase e criptosporidiose são, reconhecidamente, zoonoses, e que, entre as principais fontes de contaminação de mananciais, encontram-se os esgotos sanitários e dejetos/efluentes de atividades agropecuárias. É de se esperar que a ocorrência e concentração desses organismos nas águas superficiais sejam, provavelmente, maiores nos países em desenvolvimento e em áreas rurais, onde a contaminação da água por resíduos humanos e animais é mais acentuada.

No Brasil, embora as informações sejam ainda escassas, já foi verificada a ocorrência desses microrganismos em água para consumo humano, embora sem evidência epidemiológica da doença na comunidade servida.<sup>19</sup> Em outro estudo,<sup>20</sup> foram detectados oocistos de *Cryptosporidium* em 2,8% de amostras de fezes diarreicas em Alfenas, Minas Gerais, principalmente entre indivíduos de 0-6 anos e residentes na área urbana.

Os potenciais riscos à saúde humana decorrentes da presença dos protozoários na água de abastecimento tiveram sua expressão na Portaria Nº 518/2004,<sup>21</sup> que estabelece os padrões de potabilidade da água. Nesse instrumento, a turbidez é assumida como parâmetro de natureza sanitária, assumindo-se que baixa turbidez, por um lado, propicia maior eficiência da desinfecção na eliminação de bactérias e vírus e, por outro, é indicativa da remoção de (oo)cistos de protozoários pela filtração. São recomendados reduzidos valores (0,5 UNT) para água filtrada, “com vistas a assegurar a adequada eficiência de remoção de enterovírus, cistos de *Giardia* spp e oocistos de *Cryptosporidium* sp” em instalações compostas por filtros rápidos.

Os evidentes riscos à saúde provocados por esses protozoários nas águas de consumo, associados às inúmeras lacunas de conhecimento sobre a circulação dos microrganismos no ambiente e o desempenho dos processos de tratamento de água quanto à sua remoção, especialmente no Brasil, motivaram o presente trabalho. Ele sintetiza ampla pesquisa desenvolvida sobre o tema, com financiamento principal oriundo do projeto Vigisus, da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Para tanto, empreendeu-se uma varredura da presença dos protozoários em diversos compartimentos ambientais relacionados ao risco de

transmissão das referidas protozooses: água bruta de mananciais, água de consumo tratada por diversos processos, hortaliças, fezes humanas, fezes animais e esgotos sanitários.

## Metodologia

### Os protozoários nos diferentes ambientes

A pesquisa compreendeu diversos subprojetos, cada qual destinado a avaliar o comportamento dos protozoários em diferentes ambientes, conforme descrito a seguir:

#### - Presença dos protozoários em mananciais

Foram monitorados, por um período de 12 meses (entre setembro de 2000 e dezembro de 2001), dois mananciais de abastecimento de água na cidade de Viçosa-MG: o manancial 1 (M1), com coleta no reservatório de acumulação onde a água é captada; e o manancial 2 (M2), junto ao ponto de captação a fio d'água (Tabela 1). Além da identificação de cistos de *Giardia* e de oocistos de *Cryptosporidium*, foram analisados *Escherichia coli*, coliformes totais, esporos de bactérias aeróbias, *Clostridium perfringens*, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), oxigênio dissolvido (OD) e turbidez.

#### - Presença dos protozoários em efluentes de instalações de tratamento de água em escala real

Foi monitorado, pelo mesmo período de 12 meses (entre setembro de 2000 e dezembro de 2001), o efluente filtrado de três estações de tratamento de água (ETA) na cidade de Viçosa, Minas Gerais. Além da pesquisa de protozoários, as amostras foram analisadas para os seguintes parâmetros: *Escherichia coli*, coliformes totais, esporos de bactérias aeróbias, *Clostridium perfringens* e

turbidez. As ETA apresentam as características indicadas na Tabela 1.

#### - Remoção de protozoários em instalações de tratamento em escala-piloto

Ensaio em escala-piloto foram desenvolvidos para avaliar o desempenho da filtração lenta na remoção dos cistos e oocistos. Para tanto, foram testados em duplicata, empregando água sintética, filtros lentos de fluxo descendente e ascendente, com duas taxas de filtração. Foram analisados os mesmos parâmetros auxiliares de controle (indicadores) dos experimentos em escala real. Detalhes da metodologia empregada estão devidamente descritos em trabalho de pós-graduação.<sup>22</sup> Neste mesmo projeto, foi investigado o comportamento dos filtros ao longo da profundidade do leito filtrante.<sup>23</sup>

#### - Presença de protozoários nos esgotos sanitários

Duas campanhas foram realizadas em amostras coletadas no interceptor de esgotos sanitários da Bacia do Ribeirão Arrudas, Belo Horizonte, Minas Gerais. Foram coletadas amostras durante duas semanas distintas, uma em período não chuvoso e outra em período chuvoso. Em cada semana, foram coletadas 15 amostras, compreendendo cinco dias e três horários diários (8h, 14h e 18h30).

#### - Prevalência de protozoários em fezes humanas

Foi realizado estudo de demanda laboratorial por exames parasitológicos de fezes no Município de Viçosa-MG, com ênfase para o perfil dos indivíduos com exames positivos para *Giardia*. Foram coletadas, durante o período de um ano, em cinco laboratórios clínicos da cidade – totalizando 50% dos estabelecimentos existentes –, informações sobre todos os exames de fezes realizados. A técnica utilizada pelos laboratórios para pesquisa de enteroparasitas foi o método de Hoffmann, Pons e

**Tabela 1 - Características das estações de tratamento de água (ETA) monitoradas em Viçosa, Minas Gerais, Brasil, set 2000-dez 2001**

ETA	Manancial/captação	Processo de tratamento	Vazão (L/s)
ETA1	M1 - reservatório de acumulação	Ciclo completo – filtração rápida descendente	50
ETA2	M1 - reservatório de acumulação	Ciclo completo – Filtração rápida ascendente	100
ETA3	M2 - captação direta	Ciclo completo – filtração rápida descendente	100



Jene (HPJ).<sup>24</sup> As variáveis recuperadas a partir dos laboratórios compreenderam: endereço, sexo e idade dos pacientes e, quando positivo, os diagnósticos das parasitoses intestinais. A partir dos endereços, foi aplicado questionário socio-sanitário para levantamento de informações sobre renda familiar, abastecimento, consumo e acondicionamento de água e esgotamento sanitário da residência, entre outras. O delineamento desse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em que todas as pessoas entrevistadas para preenchimento do questionário socio-sanitário receberam os esclarecimentos necessários, inclusive com assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Para evitar a identificação dos pacientes, não houve acesso aos seus nomes, apenas a seus endereços, uma vez que a pesquisa se apoiou nas características dos domicílios e não em questões pessoais que necessitassem ser indagadas aos pacientes.

#### - **Presença de protozoários nas fezes de animais infectados**

Visando produzir oocistos para a pesquisa em escala-piloto sobre a filtração lenta, um bezerro neonato da raça holandesa, que não recebeu colostro da mãe, foi infectado com *Cryptosporidium parvum*, inoculando-se uma dose de  $5,0 \times 10^6$  oocistos. A liberação dos oocistos pelas fezes foi monitorada, permitindo acompanhar a evolução dessa produção e os potenciais impactos sobre a saúde humana decorrentes da sua liberação no ambiente.

#### - **Presença de protozoários em hortaliças**

Amostras de alface comercializada em feira livre de Viçosa foram coletadas, totalizando 13 amostras. Exames microbiológicos, inclusive de protozoários, foram realizados, para avaliar o possível efeito de uso de água de irrigação contaminada na qualidade das hortaliças.

### **Técnicas analíticas**

As técnicas analíticas laboratoriais empregadas para a mensuração dos diversos parâmetros de qualidade da água foram:

- cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* – técnica da concentração por floculação com carbonato de cálcio e enumeração com imuno-fluorescência;<sup>22,23</sup>

- *Escherichia coli* e coliformes totais – técnica cromogênica do substrato definido;<sup>25</sup>
- esporos de bactérias aeróbias e *Bacillus subtilis*, esporos de bactérias anaeróbias e *Clostridium perfringens* – técnica da membrana filtrante, empregando ágar nutriente acrescido de azul de tripiano para esporos aeróbios<sup>26</sup> e meios apropriados incubados sob condições de anaerobiose para anaeróbios;<sup>27</sup>
- parâmetros físico-químicos (DBO, DQO, OD, turbidez) – essencialmente, as análises seguiram o disposto no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.<sup>25</sup> A determinação do OD e da DBO foi realizada com o emprego do método de Winkler (método titulométrico); a DBO é computada a partir da determinação do OD no dia da coleta da amostra e após a incubação desta por cinco dias, a 20°C; a DQO é determinada com a adição de um oxidante químico (dicromato de potássio), sendo o consumo de oxigênio mensurado por espectrofotometria de luz visível; a turbidez foi determinada pelo princípio da nefelometria, em turbidímetro digital, onde uma célula fotoelétrica mede a quantidade de luz que emerge perpendicularmente a um feixe luminoso que atravessa a amostra.
- análises microbiológicas de hortaliças – foram realizadas de acordo com a metodologia preconizada pelo Bacteriological Analytical Manual, do Food and Drug Administration (BAM/FDA<sup>28</sup>) para *E. coli* e protozoários.

### **Tratamento estatístico dos dados**

A ocorrência de protozoários nos diversos meios foi analisada com base em estatística descritiva do resultado do monitoramento: média geométrica e aritmética, valores máximos e mínimos, mediana, primeiro quartil, terceiro quartil. Quando os dados incluíam “zeros”, a média geométrica era calculada utilizando  $\log_{10}(y+1)$ , subtraindo, posteriormente, uma unidade da média calculada. Para a identificação de diferenças entre as densidades de cistos e oocistos nos mananciais, foi empregado, sempre que cabível, o teste t para amostras pareadas (dados transformados para  $\log_{10}$ ) e/ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Estudos de correlação foram realizados para a verificação da associação entre a concentração de

parasitas e indicadores físico-químicos e bacteriológicos. Para tanto, a distribuição normal dos dados – e sempre que cabível, de suas variáveis transformadas – foi verificada de modo a orientar a aplicação mais adequada dos testes estatísticos. Uma vez que a maioria das variáveis estudadas, transformadas ou não, não apresentou distribuição normal, a referida associação foi avaliada com o emprego do teste não-paramétrico de Correlação de Spearman.

Para a avaliação das diferenças de eficiências entre os diversos tipos de filtros lentos testados, empregou-se a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis, por meio do pacote Kruskal, com adaptações realizadas pelo Prof. Ivan Sampaio [Escola de Veterinária/ Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)] e com versão do Laboratório de Computação Científica da UFMG.

Em todas as análises estatísticas realizadas, consideraram-se como estatisticamente significativos valores que apresentassem  $p < 0,05$ .

## Resultados

A Figura 1 sumariza os resultados obtidos para a circulação no ambiente dos oocistos de *Cryptosporidium*, e a Figura 2, os mesmos resultados para os cistos de *Giardia*. Ressalve-se que são figuras construídas com o mero intuito ilustrativo e facilitador da visualização das ocorrências dos protozoários, não refletindo um balanço de massas.

Duas tendências gerais chamaram a atenção dos autores: a presença dos protozoários em vários meios e em fezes humanas e animais, muitas vezes em densidades consideráveis; e um certo caráter errático e imprevisível na sua frequência e distribuição.

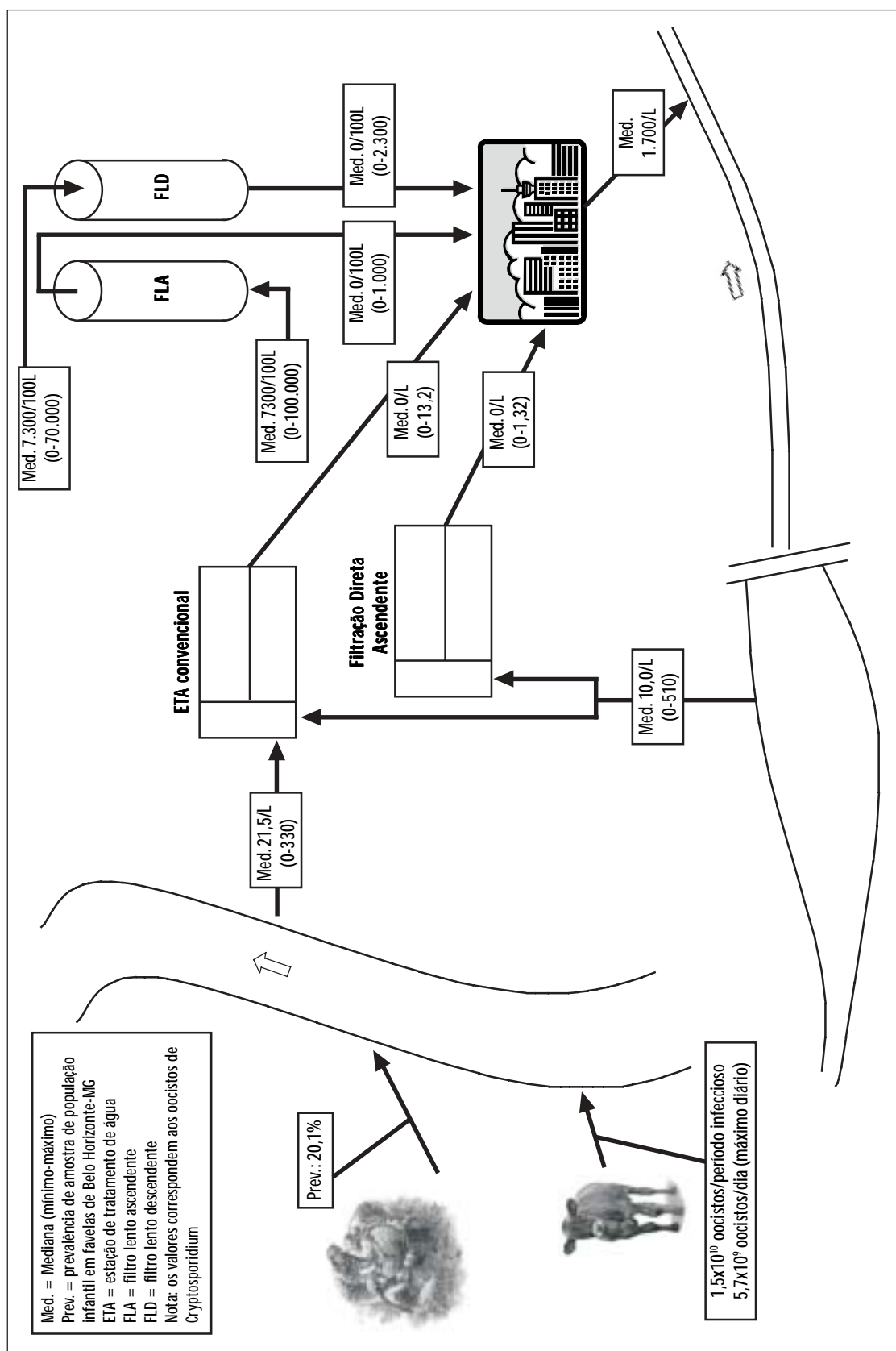
Nos mananciais, foram observadas concentrações médias de *Giardia* e *Cryptosporidium* da ordem de, respectivamente, 4-7 cistos/L e 6-20 oocistos/L; nos eventos de pico, foram encontradas concentrações tão altas quanto 510 oocistos e 140 cistos por litro. A frequência de detecção de *Giardia* e *Cryptosporidium* foi bem superior no manancial 2 (M2) – 92% das amostras positivas para (oo)cistos –, comparada às do manancial 1 (M1) – 58% e 67%, respectivamente, para cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*. Além disso, os resultados indicaram que oocistos de *Cryptosporidium* apresentaram-se em maiores densidades no M2 – mais poluído –

que no M1 – menos poluído e com reservatório de acumulação (diferença estatisticamente significativa pelo teste *t* para amostras pareadas; e não significativa pelo teste de Mann-Whitney) – o mesmo não se verificando para a *Giardia*. A concentração de *Cryptosporidium* foi superior à de *Giardia* no M2 (novamente, diferença estatisticamente significativa pelo teste *t*; e não significativa pelo teste de Mann-Whitney), não havendo diferença no M1. Há indícios de que, no M2, as concentrações de *Giardia* possam estar associadas com as de endosporos e com a turbidez; e as de *Cryptosporidium*, com a turbidez. As ocorrências de ambos os protozoários associam-se fortemente, entre si. No M1, *Giardia* associa-se com coliformes e com turbidez; e *Cryptosporidium*, com turbidez e, de novo, fortemente, com a própria *Giardia*.

Na Figura 3, são apresentados os resultados da ocorrência de cistos e oocistos na água bruta da ETA1 e da ETA2 – ambas abastecidas pelo manancial M1 – e no efluente filtrado dessas estações, em que se pode observar a eficiência de remoção de *Giardia* e *Cryptosporidium*. Os resultados da ETA3 não são apresentados, pois os protozoários foram totalmente removidos nessa estação.

Nas estações ETA1 e ETA2, a remoção situou-se entre 1 e 4 log (90-99,99%). A maioria dos dados dos efluentes mostrou ampla variação e distribuição não normal e, na ETA1, em geral, a eficiência de remoção foi inferior à verificada na ETA2. Associações entre a remoção de protozoários e os indicadores testados, na grande maioria dos casos, foram pouco nítidas e estatisticamente não significativas. O resultado da concentração de oocistos no efluente da ETA1, em setembro de 2000 (13,2 oocistos/L), deve ser analisado com cautela, quando observado em conjunto com os demais resultados de água bruta e filtrada.

Na Tabela 2 e na Figura 4, são apresentados alguns dos resultados da pesquisa sobre a eficiência de instalações de tratamento por filtração lenta, em escala-piloto. Segundo o teste estatístico de Kruskal-Wallis, tanto para *Cryptosporidium* quanto para *Giardia*, taxa de filtração mais alta implica maior concentração de (oo)cistos nos efluentes dos filtros de fluxo ascendente, não se verificando diferenças estatisticamente significativas nas comparações entre os demais arranjos testados. A Figura 4 ilustra a retenção dos oocistos ao longo da profundidade dos filtros descendentes.



**Figura 1 - Dinâmica ambiental do *Cryptosporidium* em Viçosa, Minas Gerais, Brasil, set 2000-dez 2001**

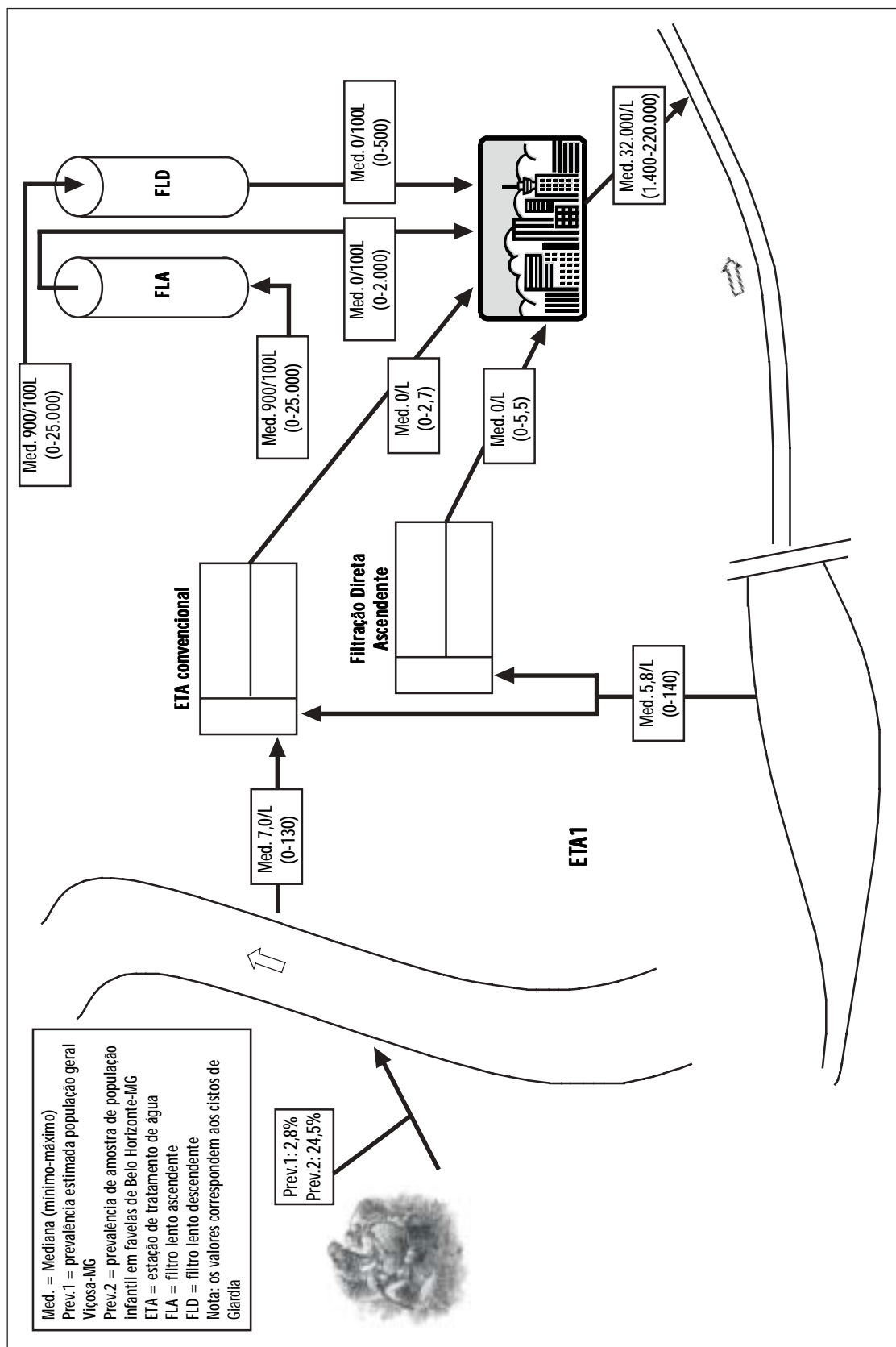
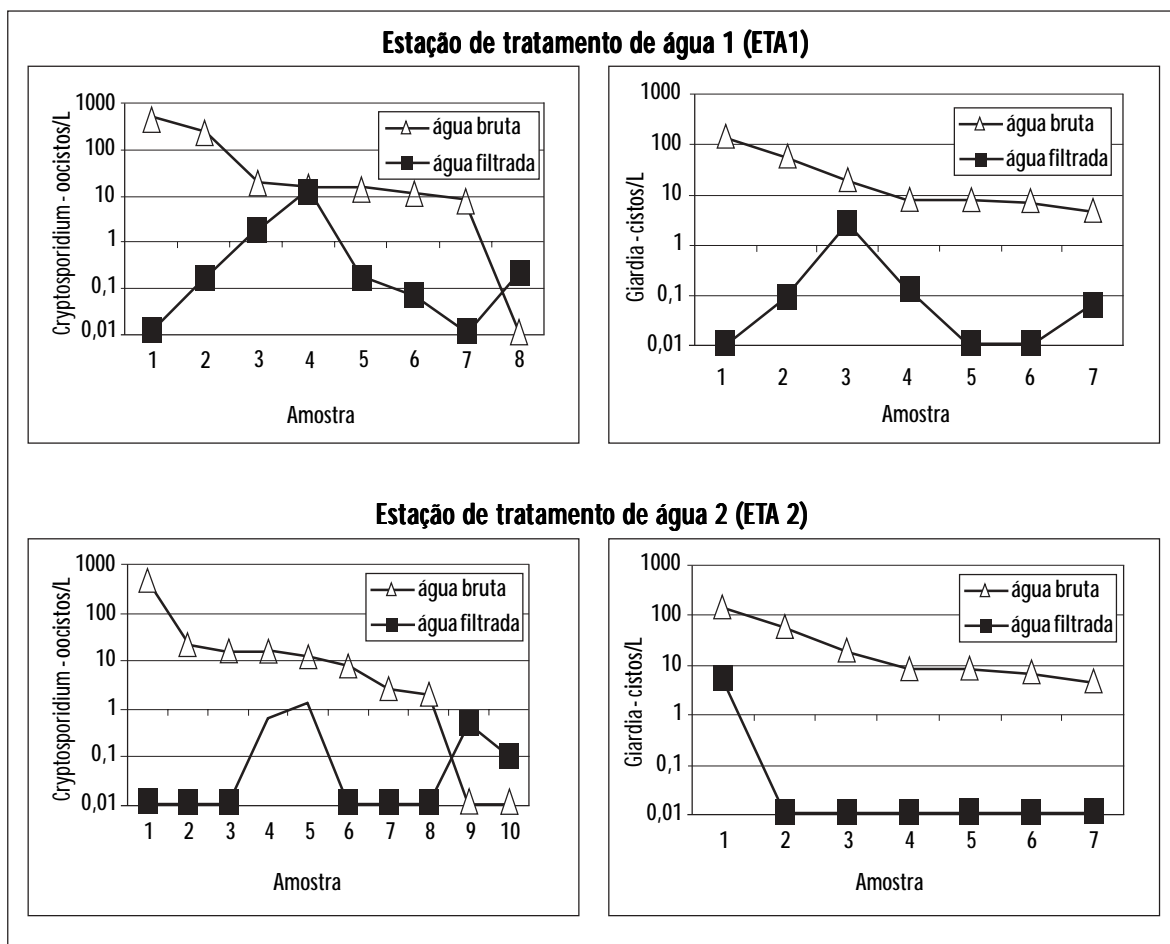


Figura 2 - Dinâmica ambiental do Giardia em Viçosa, Minas Gerais, Brasil, set 2000-dez 2001





**Figura 3 - Densidade de oocistos de *Cryptosporidium* e de cistos de *Giardia* na água bruta e filtrada nas estações de tratamento de água – ETA1 e ETA2 – em Viçosa, Minas Gerais. Brasil, set 2000-dez 2001**

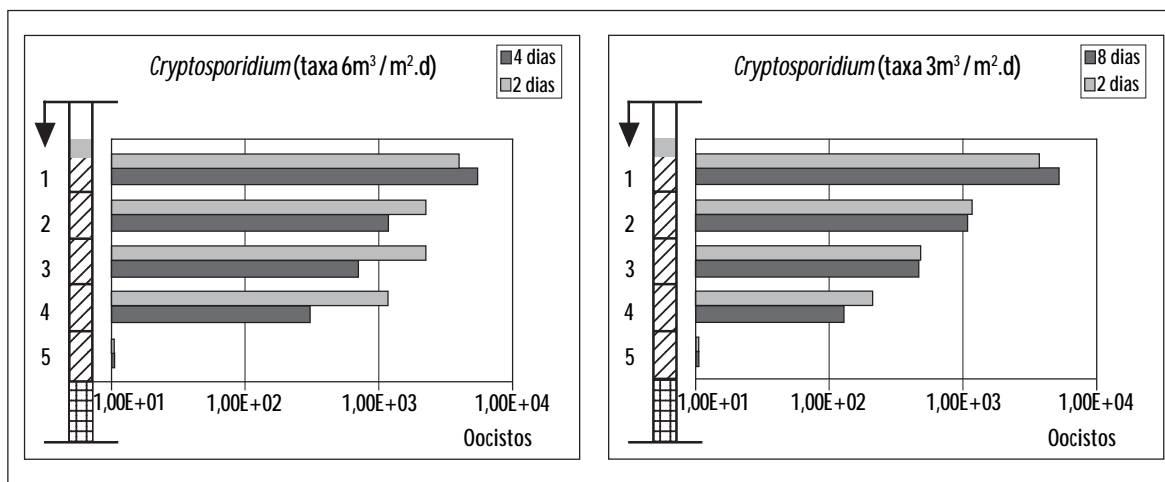
**Tabela 2 - Estatística descritiva de *Cryptosporidium* sp dos efluentes segundo os tratamentos de filtração lenta em Viçosa, Minas Gerais. Brasil, set 2000-dez 2001**

ETA	Filtro lento descendente <sup>a</sup>		Filtro lento ascendente <sup>b</sup>	
	Taxa 6	Taxa 3	Taxa 6	Taxa 3
Número de análises	10	16	25	23
Média (oocistos/100L)	128,000	195,938	166,080	13,478
Mediana (oocistos/100L)	0,000	0,000	0,000	0,000
Mínimo (oocistos/100L)	0,000	0,000	0,000	0,000
Máximo (oocistos/100L)	670,000	2335,000	1000,000	200,000
Desvio padrão (oocistos/100L)	217,348	581,834	297,210	44,041

a) densidade mediana na água bruta (filtro lento descendente): 7.300/100L

b) densidade mediana na água bruta (filtro lento ascendente): 4.650/100L

Nota: Taxa 6 e Taxa 3 – taxas de filtração de 6 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.dia e 3 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.dia, respectivamente



**Figura 4 - Variação dos oocistos de *Cryptosporidium* ao longo da profundidade de filtros lentos em Viçosa, Minas Gerais. Brasil, set 200-dez 2001**

Nesse estudo – remoção dos protozoários em filtros lentos – observaram-se associações estatisticamente significativas entre a concentração de oocistos no efluente e a presença de *Giardia*, *E. coli*, coliformes totais e esporos anaeróbios, enquanto o mesmo não se verificou para *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*, esporos aeróbios e turbidez. As mesmas associações foram observadas para a densidade de *Giardia*, com a diferença de que, para esporos aeróbios, foi demonstrada associação significativa. O microrganismo que apresentou taxas de remoções mais semelhantes às dos protozoários foi o *Clostridium perfringens*. Taxas de remoção similares, mas em menor magnitude, foram observadas para turbidez, esporos anaeróbios e coliformes totais.

Na investigação sobre a presença de protozoários nos esgotos sanitários do Ribeirão Arrudas em Belo Horizonte, identificaram-se densidades de  $10^2$  a  $10^4$  oocistos/L e de  $10^3$  a  $10^5$  cistos/L. Não se observou um padrão de variação diária e semanal dos (oo)cistos nos esgotos sanitários, mas apenas ligeiro acréscimo nos poucos dias de chuva.

No estudo da demanda laboratorial em Viçosa, avaliando 3.463 exames parasitológicos de fezes, encontraram-se 10,6% de exames positivos para *G. lamblia*, o que, extrapolando-se para a base populacional desse município, resultaria em uma prevalência estimada de 2,8%. A prevalência de enteroparasitas concentra-se na faixa etária de 1 a 14 anos e em bairros com precária qualidade de vida e infra-estrutura de saneamento –

logo, na população de mais baixa renda. Comparando a prevalência de exames positivos para protozoários intestinais segundo diferentes condições de saneamento, demonstram maior proteção: os indivíduos que residem em casas com reservatório domiciliar de água para consumo tampado, em relação àqueles cujas residências possuem ligação direta da rede; e os indivíduos que residem em casas que dispõem seus esgotos em rede ou córrego, em relação àqueles que utilizam fossas.

Resultado complementar importante foi obtido em estudo desenvolvido em favelas de Belo Horizonte,<sup>29</sup> que comparou três áreas com diferentes condições de saneamento e segundo diversos indicadores de saúde de crianças entre um e cinco anos. A presença de protozoários nas fezes e respectiva distribuição é apresentada na Tabela 3, revelando elevadas prevalências nessa população, quando submetida a condições precárias de saneamento, inclusive sinalizando para um gradiente de risco em função dessas mesmas condições.

Na avaliação da presença de protozoários nas fezes de animal infectado, foi inoculada dose de  $5,0 \times 10^6$  oocistos de *C. parvum* no bezerro neonato. Após 12 dias, houve uma produção global de  $1,5 \times 10^{10}$  oocistos (Figura 5).

Finalmente, quanto à investigação da presença de protozoários em hortaliças, embora, nas 13 amostras de alfaces coletadas em feiras livres de Viçosa, tenham-se identificado, em três delas, organismos patogênicos – *Salmonella* sp e *Enterobius vermiculares* –, não foram detectados *Cryptosporidium* e *Giardia*.

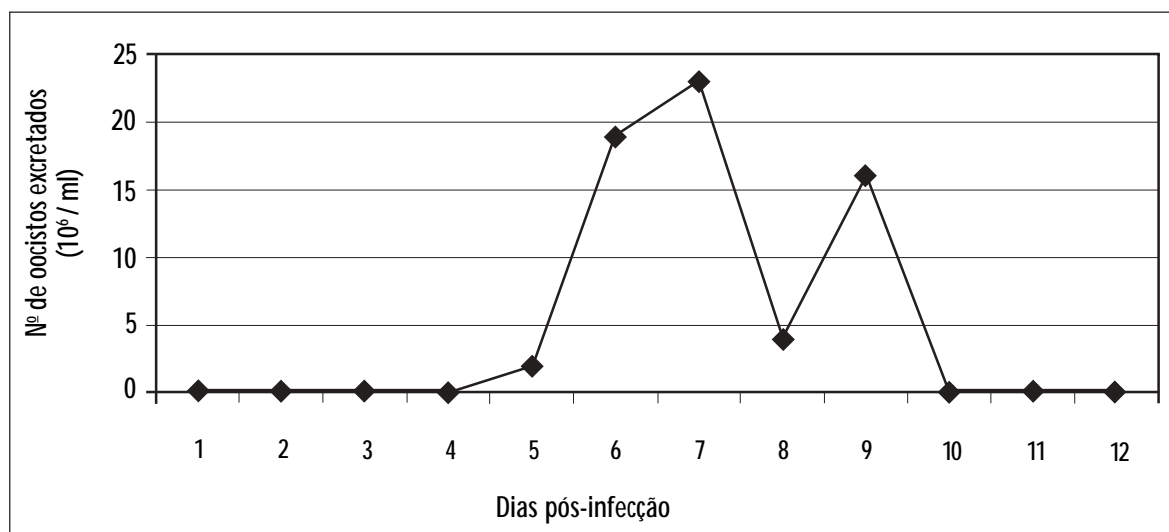
**Tabela 3 - Parasitas nas fezes em população infantil de favelas de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2003**

ETA	Área - n(%)		
	CACE <sup>a</sup>	CASE <sup>b</sup>	SASE <sup>c</sup>
<b><i>Cryptosporidium</i></b>			
Positivo	32 (20,7)	45 (29,2)	39 (25,7)
Negativo	123 (79,3)	109 (70,8)	113 (74,3)
<b><i>Giardia</i></b>			
Positivo	36 (23,4)	38 (24,7)	39 (25,7)
Negativo	119 (76,6)	116 (75,3)	113 (74,3)

a) CACE: área **com** abastecimento de água e **com** esgotamento sanitário

b) CASE: área **com** abastecimento de água e **sem** esgotamento sanitário

c) SASE: área **sem** abastecimento de água e **sem** esgotamento sanitário

**Figura 5 - Evolução da liberação de oocistos por bezerro infectado**

## Discussão

Os valores médios de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* encontrados nos mananciais de abastecimento apresentam-se, em ordem de grandeza, compatíveis com os resultados observados por diversos autores em mananciais poluídos, em estudos que tiveram por objeto diferentes países, como compilado em Bastos *et al.*<sup>30</sup> Entretanto, os valores máximos são bem superiores aos registrados na literatura, próximos aos usualmente detectados em esgotos sanitários, no presente estudo e noutros realizados em

diversos países, ainda conforme compilação de Bastos *et al.*<sup>30</sup> As características de ocupação das bacias de captação ajudam a explicar os resultados de ocorrência de (oo)cistos de protozoários nos mananciais de abastecimento (bacias desprotegidas, com fortes pressões de ocupação urbana e a presença de – relativamente – intensas atividades agropecuárias), que podem ser interpretados como indicativos de que cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* apresentam padrões de ocorrência similares e fontes comuns de contaminação dos mananciais. Os resultados obtidos permitem, ainda, inferir sobre uma certa

influência das chuvas na ocorrência de protozoários nos mananciais, embora não demonstrável estatisticamente.

No monitoramento de estações que empregam processos convencionais de tratamento (ciclo completo, filtração rápida), a pior eficiência de remoção de protozoários verificada na ETA1 pode ser, eventualmente, debitada a reconhecidas deficiências operacionais, mais especificamente à deterioração acentuada dos leitos dos filtros, além da inadequação da granulometria da areia e da obsolescência de alguns equipamentos.<sup>31</sup> Por outro lado, a melhor eficiência observada na ETA3 (remoção total e sistemática de protozoários) pode estar associada ao fato dessa estação ser mais recente e, portanto, melhor equipada e controlada.

Na maioria dos eventos de amostragem positivos, cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* foram detectados no efluente filtrado em densidades bastante acima das metas supostamente correspondentes a riscos anuais de infecção de  $10^{-4}$  a  $10^{-32}$  e do padrão de potabilidade europeu de 10 oocistos/100L, este último correspondente a um risco de infecção anual da ordem de  $10^{-1}$ .<sup>33</sup> A julgar pelas densidades de cistos e oocistos encontradas no manancial 1 (4,62-140 cistos/L e 2,0-510 oocistos/L), para se manter um nível de risco de infecção de  $10^{-4}$ , seriam necessárias remoções de *Giardia* e *Cryptosporidium* da ordem de 4 a 5  $\log_{10}$ .<sup>34,35</sup> Contudo, quando cistos e oocistos foram detectados no efluente filtrado, a remoção verificada oscilou entre 1 e 3  $\log_{10}$ . Em síntese, na etapa de avaliação da presença dos protozoários no efluente filtrado das ETAs, pode-se inferir que os resultados são indicativos da eficiência potencial dos processos de filtração rápida na remoção de protozoários. Entretanto, esses mesmos resultados revelam a necessidade de otimização e rigoroso controle dos processos unitários de tratamento.

Nos estudos em escala-piloto, observa-se que a filtração lenta é um processo altamente efetivo na remoção de oocistos de *Cryptosporidium*, bem como de cistos de *Giardia*, sendo a taxa de filtração, aparentemente, uma variável de controle importante. Os filtros ascendentes de baixa taxa de filtração destacaram-se pela sua estabilidade, apresentando as menores concentrações no efluente. Mesmo quando submetidos a condições operacionais extremas – alta taxa

de filtração, água bruta com alta turbidez e alta densidade de oocistos –, o processo manteve-se eficiente e estável quanto à qualidade da água tratada.

Em linhas gerais, o estudo de demanda laboratorial em Viçosa e o realizado em população infantil de favelas de Belo Horizonte evidenciam a circulação de protozoários entre populações de baixa renda, por vezes com elevada prevalência.

Os resultados da inoculação de oocistos de *Cryptosporidium* em bezerro neonato confirmam o potencial de risco oferecido por animais infectados, como transmissores da doença, para a contaminação ambiental.

A hipótese de transmissão de protozooses via consumo de hortaliças não pode ser confirmada com base nos resultados deste estudo. Porém, o pequeno número de amostras e a presença de outros organismos patogênicos, associados a limitações analíticas, não permitem assegurar a completa ausência de risco.

Em que pesem as limitações analíticas das técnicas empregadas para a detecção de *Cryptosporidium* e de *Giardia* nos diversos meios – podendo conduzir a resultados falso-positivos, que não determinam a viabilidade dos microrganismos –, a presente pesquisa aponta para elevados riscos potenciais à saúde humana, decorrentes da presença desses protozoários, coerentemente com o entendimento alcançado em outros países. Os seguintes resultados corroboram a afirmativa:

- elevadas concentrações dos protozoários encontradas nos mananciais;
- sua presença na água filtrada de estações de tratamento existentes, mesmo quando se emprega o processo convencional completo de tratamento;
- presença dos protozoários no efluente de filtros lentos, apesar do elevado grau de eficiência desse processo;
- elevada densidade nos esgotos sanitários, indicando o risco ambiental de utilização de mananciais que tenham sido contaminados por resíduos humanos;
- consideravelmente elevada prevalência de protozoários em fezes humanas; e
- explosiva reprodução e eliminação dos oocistos em animais contaminados, atestando o risco ambiental representado pela presença de animais nas bacias dos mananciais.

Em vista desses resultados, é recomendável:

- o prosseguimento do monitoramento, no Brasil, da presença dos protozoários nos diversos meios, visando identificar fatores que conduzam à sua ocorrência;
- o prosseguimento de pesquisas sobre a remoção dos protozoários nos diversos processos de tratamento de águas de abastecimento;
- o desenvolvimento de pesquisas sobre a remoção dos protozoários nos diversos processos de tratamento de esgotos sanitários;
- a realização de pesquisas aprofundadas sobre os mais adequados parâmetros marcadores da presença dos protozoários em águas naturais e para consumo humano; e
- a realização de pesquisas mais aprofundadas sobre a premissa nacional, adotada pela Portaria Nº 518/2004, e internacional, de emprego do parâmetro turbidez como indicação de risco da presença de cistos e oocistos em águas tratadas.

## Referências bibliográficas

1. Rose JB. Occurrence and significance of *Cryptosporidium* in water. Journal American Water Works Association 1988;80(2):53-58.
2. Juraneck DD, Addiss DG, Bartlett ME, et al. Cryptosporidiosis and public health: Workshop report. Journal American Water Works Association 1995; p.69-80.
3. Dubey JP, Speer CA, Fayer R. Cryptosporidiosis of man and animals. Boca Raton: Ed. CRC Press; 1990.
4. Lisle JT, Rose JB. *Cryptosporidium* contamination of water in the USA and UK: a mini-review. Journal of Water Supply Research and Technology - Aqua 1995;44(33):103-107.
5. Smith HV, Robertson LJ, Ongerth JE. Cryptosporidiosis and giardiasis: the impact of waterborne transmission. Journal of Water Supply Research and Technology - Aqua 1995;44(6):258-274.
6. Daniel PA, Dumounier N, Mandra V, Tambo N, Kamel T. Pathogenic protozoa in raw and drinking water: occurrence and removal (*Giardia*, *Cryptosporidium*, etc.). Water Supply 1996;14(3/4):387-401.
7. Fox KR, Lytle DA. Milwaukee's crypto outbreak: investigation and recommendations. Journal American Water Works Association 1986 Sept; p.87-94.
8. Solo-Gabriele H, Neumeister S. US outbreaks of cryptosporidiosis. Journal American Water Works Association 1996;88(9):76-86.
9. Ongerth JE. Evaluation of treatment for removing *Giardia* cysts. Journal American Water Works Association 1990;80(6):85-95.
10. LeChevallier MW, Norton WD. *Giardia* and *Cryptosporidium* in raw and finished water. Journal American Water Works Association 1995;87(9):54-68.
11. Nieminski EC, Ongerth JE. Removing *Giardia* and *Cryptosporium* by conventional treatment and direct filtration. Journal American Water Works Association 1995;87(9):90-106.
12. Gordon G, Bubnis B. Environmentally friendly methods of water disinfectants. Progress in Nuclear Energy 2000;37(1/4):37-40.
13. Ongerth JE, Pecoraro JP. Removing *Cryptosporium* using multimedia filters. Journal American Water Works Association 1995;87(12):83-89.
14. United States Environmental Protection Agency. National primary drinking water regulations: interim enhanced surface water treatment; final rule. Part V (40 CFR, Parts 9, 141, and 142). Washington, DC, Federal Register, Rules and regulations, vol. 613 n. 241; Wednesday, December 16, 1998a. p.69479-69521.
15. MacIer BA, Regli S. Use of microbial risk assessment in setting US drinking water standards. International Journal of Food Microbiology 1993;18:245-256.
16. MacIer BA. Acceptable risk and U.S. microbial drinking water standards. In: Craum, editor. Safety of water disinfection. Washington: International Life Sciences Institute Press; 1993. apud Hass CN, Rose J, Gerba CP. Quantitative microbial risk assessment. New York: John Wiley & Sons; 1999.
17. Ongerth JE, Stibbs HH. Identification of *Cryptosporium* oocysts in river water. Applied and Environmental Microbiology 1986;54(4):1714.
18. Ongerth JE. *Giardia* cysts concentration in river waters. Journal American Water Works Association 1989;81(9):81.
19. Newman RD, Wuhib T, Lima AAM, Guerrant RL, Sears CL. Environmental sources of *Cryptosporidium* in an



- urban slum in northeastern Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1993;49(2):270-275.
20. Silva AC, Hirschfeld MMM. Ocorrência de *Cryptosporidium* sp em indivíduos com fezes diarreicas, no Município de Alfenas-MG. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo* 1994;30(1):33-37.
21. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, v.141, n.59, p.266, 25 mar. 2004. Seção 1.
22. Vieira MBCM. Avaliação da eficiência de processos de tratamento de água de abastecimento na remoção de oocistos de *Cryptosporidium* sp. e cistos de *Giardia* spp [tese de Doutorado]. Belo Horizonte (MG): UFMG; 2002.
23. Brito LLA. Dinâmica de *Cryptosporidium* sp e de indicadores de qualidade da água ao longo da profundidade de filtros lentos de areia [dissertação de Mestrado]. Belo Horizonte (MG): UFMG; 2002.
24. Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico Journal of Public Health Tropical Medicine* 1934;9:283-291.
25. APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20 ed. Washington; 1998.
26. Rice EW, Fox KR, Miltner RJ, Lytle DA, Johnson CH. Evaluating plant performance with endospores. *Journal American Water Works Association* 1996;88(9):112-130.
27. Fout GS, Schaeffer III FW, Messer JW, Dahling DR, Stetler RE. Membrane filtration method for *C. parvum*. *ICR Microbiological Laboratory Manual*; 1996. EPA 600/R – 95/178, Cincinnati.
28. United States. Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. 8th Ed. Revision A; 1998.
29. Azevedo EA. Exclusão sanitária em Belo Horizonte - MG: caracterização e associação com indicadores de saúde [dissertação de Mestrado]. Belo Horizonte (MG): UFMG; 2003.
30. Bastos RKX, Bevilacqua PD, Heller L, Vieira MBCM, Brito LLA. Abordagem sanitário-epidemiológica do tratamento e da qualidade da água. Entre o desejável e o possível. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 21; 2001; João Pessoa, PB. Anais... Porto Alegre: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; 2001. (CD-ROM).
31. Bastos RKX, Vargas LC, Moisés SS, et al. Avaliação do desempenho de estações de tratamento de água: desvendando o real. In: Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 27; 2000; Porto Alegre, RS. Anais... Porto Alegre: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental; 2000. (CD-ROM).
32. Haas CN, Rose J, Gerba CP. Quantitative microbial risk assessment. New York: John Wiley & Sons; 1999.
33. Mara D. *Cryptosporidium* – a reasonable risk? *Water* 21, 2000.
34. Regli S, Rose JB, Haas CN, et al. Modeling the risk from Giardia and viruses in drinking water. *Journal American Water Works Association* 1991;83(11):76-84.
35. Haas CN, Crockett CS, Rose JB, et al. Assessing the risk posed by oocysts in drinking water. *Journal American Water Works Association* 1996;88(9):131-1364.