

# OCORRÊNCIA DE AGENTES INFECTO-PARASITÁRIOS (RE)EMERGENTES E OPORTUNISTAS EM ÁGUAS TRATADAS NO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA-GOIÁS, BRASIL, 2011

Sônia de Fátima Oliveira SANTOS<sup>1,2\*</sup> Marco Tulio Antonio GARCIA-ZAPATA<sup>1</sup> Hugo Delleon da SILVA<sup>1,2</sup> Elisângela P. SILVEIRA-LACERDA<sup>2</sup> Ludimila Aparecida C WOSNJUK<sup>2</sup> Carlos Eduardo ANUNCIAÇÃO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa de Agentes Emergentes e Re-emergentes - (NUPEREME) / IPTSP / Universidade Federal de Goiás / IPTSP- UFG

<sup>2</sup>Laboratório de Diagnóstico Genético e Molecular (LDGM) - Universidade Federal de Goiás-UFG

\*E-mail: [soniaoliveirasantos@yahoo.com.br](mailto:soniaoliveirasantos@yahoo.com.br)

Palavras-chave: Água, Agentes oportunistas, Marcadores parasitológicos, PCR.

## 1. INTRODUÇÃO

A água é uma substância vital para os seres vivos, porém, devido à ação antrópica, inúmeros microrganismos são disseminados para ambientes aquáticos. Sabe-se que os microrganismos dotados de potencial ação patogênica chegam aos ambientes aquáticos através das excreções intestinais do homem e de outros animais. Assim, uma atenção especial deve ser dada às análises de qualidade das águas potáveis, pois a água proporciona um meio de veiculação destes patógenos. Recentes pesquisas têm demonstrado a utilização de outros indicadores bacterianos, como o *Helicobacter pylori*, que pode gerar além de quadros de gastrite, neoplasias digestivas. Dentre os parasitos, os protozoários (oportunistas) ocasionam importantes problemas de contaminação das águas consideradas “potáveis”. Alguns protozoários como o *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia* são bons exemplos de importantes agentes biológicos contaminantes

da água e que acarretam diarreias em várias partes do mundo (Garcia-Zapata, 2003). Apesar desta relevância, há uma inexistência de metodologias para a detecção destes em águas, o que dificulta o esclarecimento, e conseqüentemente ocorre a sub-notificação de casos. Para a avaliação das condições de portabilidade de uma água utilizam-se bactérias do grupo coliforme, onde a presença destas na água indica poluição, com o risco potencial de presença de microrganismos patogênicos. Contudo, bactérias do grupo coliformes (coliformes fecais e coliformes totais) e *Streptococcus* sp. não oferecem correlação significativa com importantes patógenos de importância médico-sanitária, como os protozoários de disseminação fecal-oral. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi padronizar e comparar técnicas parasitológicas e moleculares na detecção e avaliação da qualidade das águas tratadas do Município de Goiânia-Goiás em relação à ocorrência de protozoários oportunistas (*Cryptosporidium* sp) e correlacionar com ocorrência de coliformes fecais.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

A coleta das amostras de águas tratadas (AT) foi realizada mensalmente nos meses de fevereiro e março de 2011 perfazendo um total de 32 amostras. Para a pesquisa dos parasitos foram empregadas as técnicas de imunofluorescência Direta (IFA) utilizando kit MeriFluor® anti-*Cryptosporidium/Giardia*, (Meridian Bioscience, Cincinnati, Ohio) e ELISA (RIDASCREEN®-*Cryptosporidium*), que é um ensaio imunoenzimático para a detecção qualitativa de antígenos nas amostras. Para o estudo dos coliformes foi utilizado o Kit da Alfakit – Tecnobac que analisa coliformes totais, fecais e salmonela, mínimo detectável de 60 UFC/100 mL. As análises foram realizadas no Núcleo de Pesquisa de Agentes Emergentes e Re-emergentes (NUPEREME)-UFG e no Laboratório de Genética Molecular (LGM)-UFG.

### **Concentração da amostra**

Imediatamente após a coleta, as diversas amostras foram encaminhadas para análise na Unidade de Protozoologia do IPTSP/UFG e ao Laboratório de Diagnóstico Genético e Molecular – ICB/UFG para a realização da filtração (Silva, et al., 2010) e análises das amostras.

### **Diagnóstico imunológico**

Uma alíquota do concentrado das amostras foi utilizada para realização da técnica de Imunofluorescência Direta pelo Kit MeriFluor® seguindo metodologia da bula do kit.

### **Diagnostico imuno-enzimático**

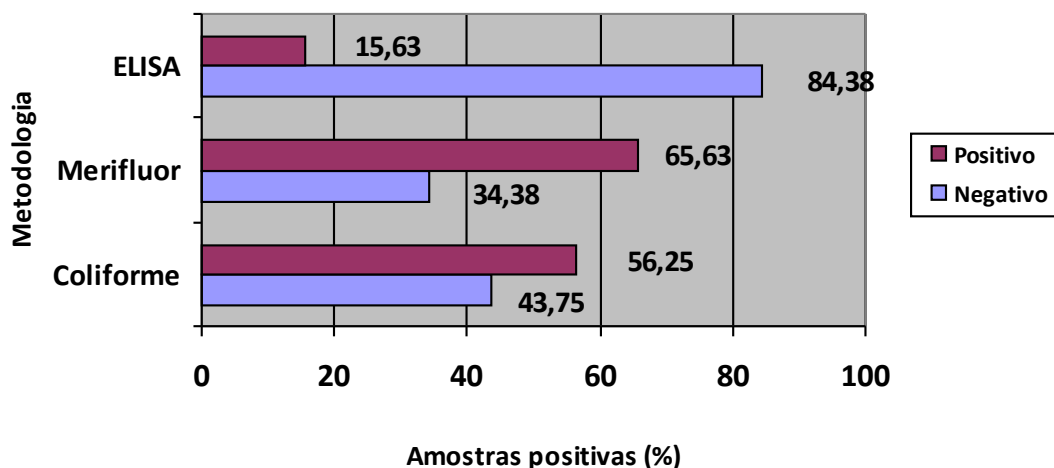
Outra alíquota do concentrado foi utilizada para realização de ensaios Imuno-enzimáticos (ELISA RIDASCREEN®-*Cryptosporidium*) seguindo metodologia da bula do kit.

### **Extração de DNA**

Para a extração do material genético foi utilizado o método de Sambrook & Russel (2001). As alíquotas foram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior realização de ensaios moleculares (PCR, pPCR e Real-time PCR).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Das 32 amostras analisadas, 65,63% (21/32) foram positivas para *Cryptosporidium* sp. utilizando kit MeriFluor® e 15,63% (5/32) utilizando o kit ELISA RIDASCREEN®. 18(56,25%) foram positivas para coliformes totais ou fecais utilizando a metodologia Alfa kit – Tecnobac (**Figura 1**). Apesar da metodologia do kit MERIFLUOR apresentar maior índice de positividade em relação à metodologia do kit ELISA, estatisticamente não foi significativo ( $p=0,027$ ), mostrando que as duas metodologias podem ser utilizadas de forma ainda complementar para detecção de *Cryptosporidium* sp. em amostras ambientais (**Tabela 1**). A adaptação da ELISA para ensaios ambientais para detecção de *Cryptosporidium* carece ainda de estudos, uma vez que há possibilidade de interferência de materiais diversos presentes na água, como sais, proteínas, etc. Verificou-se ainda que quando comparado o indicador coliforme com as metodologias kit MERIFLUOR e kit ELISA, nas condições experimentais, o kit MERIFLUOR se mostrou mais sensível ou adaptado para análises ambientais com índices de positividade mais coerentes com os índices de contaminação por coliformes fecais.



**Figura 1** – Ocorrência de patógenos de acordo com as metodologias avaliadas.

**Tabela 1** - Comparação das metodologias de detecção de *Cryptosporidium* sp. nas amostras avaliadas.

Coliformes/alfa kit	Negativo	%	Positivo	%	p	OR	IC 95%	
							Min	Max
<b>MERIFLUOR®</b>								
Negativo	8	57,1	3	16,7				
Positivo	6	42,9	15	83,3				
Total	14	100,0	18	100,0	0,027	6,67	1,31	34,03
<b>ELISA</b>								
Negativo	12	85,7	15	83,3				
Positivo	2	14,3	3	16,7				
Total	14	100,0	18	100,0	1,000			

Teste Exato de Fisher

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados revelam a presença de agentes infecciosos (re)emergentes e/ou oportunistas nas águas de abastecimento público de Goiânia (AT) mostrando a necessidade de re-avaliar o nível de potabilidade da água que é baseado apenas no índice de coliformes fecais. As metodologias avaliadas para a detecção de

*Cryptosporidium* sp. mostraram-se rápidas e de fácil uso. O Kit MERIFLUOR demonstrou maior sensibilidade para a análises ambientais, todavia, considerando a robustez das duas técnicas (padrão gold), há necessidade de maiores estudos de validação, sobretudo no método da ELISA.

## **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

GARCIA-ZAPATA, M.T.A; PASSO, A.; RUANO, A.L.; SOUZA JÚNIOR, E.S.; CECHETTO, F.H.; MANZI, R.S. Ciclosporíase intestinal: relato dos primeiros casos humanos no estado de Goiás, Brasil. Revista de Patologia Tropical, GOIÂNIA, v. 32, p. 121-130, 2003.

SAMBROOK, J., & Russel, D. (2001). Molecular cloning: a laboratory manual (3rd ed., Vol. 1–3). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press Section.

SANTOS, S.F.O.; SILVA, H.D.; WOSNJUK, L.A.C.; VILANOVA-COSTA, C.A.S.T.; PEREIRA, F.C.; SILVEIRA-LACERDA, E.P.; GARCÍAZAPATA, M.T.A.; ANUNCIAÇÃO. Journal: Water Quality, Exposure and Health , vol. 2, no. 1, 2010.

SILVA, H.D.; WOSNJUK, L.A.C.; SANTOS, S,FO.; VILANOVA-COSTA, C.A.S.T.; PEREIRA, F.C.; SILVEIRA-LACERDA, E.P.; GARCÍAZAPATA, M.T.A.; ANUNCIAÇÃO, C.E. (2010) Environmental Monitoring of Opportunistic Protozoa in Riversand Lakes in the Neotropics Based on Yearly Monitoring. Food and Environmental Virology, 2:35–40.

Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20<sup>th</sup> ed. Pub. by American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation, 1998.

**RESUMO REVISADO** Pelo PROF. Dr. Marco Túlio Antônio García-zapata