



PREFEITURA DE  
**CAMPOS**

SECRETARIA MUNICIPAL  
DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA  
E TECNOLOGIA

 **Mais  
Ciência**

# QUALIDADE DA ÁGUA DE POÇOS RASOS DE ÁREAS URBANAS E RURAIS DE CAMPOS DOS GOYTACAZES, RIO DE JANEIRO: DIAGNÓSTICO DE PATÓGENOS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA

**Orientadora: Samira Salim Mello Gallo**  
Bolsista: Gabrielli Lima de Alcantara Ramos

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
2022/2023



## SUMÁRIO

RESUMO .....	3
INTRODUÇÃO .....	4
REVISÃO DE LITERATURA.....	6
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
Local de execução.....	10
Coleta de amostras.....	10
Extração de DNA.....	11
Reação em cadeia da polimerase (PCR) .....	12
<i>Cryptosporidium</i> spp. ....	12
<i>Giardia</i> spp. ....	12
<i>Enterocytozoon bieneusi</i> .....	13
<i>Balantidium coli</i> .....	14
<i>Entamoeba</i> spp.....	14
<i>Blastocystis</i> spp.....	14
Eletroforese.....	15
Educação em saúde .....	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
REFERÊNCIAS .....	27

## RESUMO

A água é um recurso que afeta todos os aspectos da vida. A sua contaminação pode ter um tremendo impacto na saúde pública, comportamento e moral. Protozoários de veiculação hídrica são potenciais riscos de contaminação ambiental. Alguns desses microrganismos possuem importância em saúde pública e são responsáveis por altas taxas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Este projeto tem como objetivo determinar os níveis de contaminação ambiental por microrganismos de veiculação hídrica, através do diagnóstico molecular de protozoários entéricos em poços rasos de áreas urbanas e rurais de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. Para tanto, serão feitas análises moleculares em 10 litros de água de poço, essas amostras serão examinadas pela PCR com iniciadores específicos para *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Enterocytozoon bieneusi*, *Balantidium* spp., *Entamoeba* spp., *Blastocystis* spp. Foram coletadas 20 amostras em diferentes bairros como Parque Aurora, Ururá, Conselheiro Josino, Venda Nova e Travessão. As amostras foram pré-filtradas e filtradas e estão em processo de extração de DNA para posterior análise por PCR. A maioria das pessoas utilizava essa água para consumo e para todas as necessidades domésticas e outras pessoas só utilizavam para necessidades domésticas. Com essa pesquisa, esperamos contribuir para o acesso à água potável e não contaminada e conscientizar a população sobre a importância da preservação das águas para a melhoria da qualidade de vida.

## INTRODUÇÃO

A água é necessidade primordial para a vida, recurso natural indispensável ao ser humano e aos demais seres vivos, além de ser suporte essencial aos ecossistemas. É utilizada para o consumo humano e para as atividades socioeconômicas, sendo retirada de rios, lagos, represas e aquíferos, tendo influência direta sobre a saúde, a qualidade de vida e o desenvolvimento das populações (SCURACCHIO, 2010). Atualmente a água é uma das principais preocupações mundiais ao que se refere ao seu uso pela quantidade e a manutenção pela sua qualidade. A poluição hídrica compromete a qualidade da água, a biodiversidade, o abastecimento e a produção de alimentos. Assim é necessário que se adotem medidas para garantir, tanto quanto possível, características da água que a torne própria ao consumo.

A preservação da qualidade da água é uma necessidade universal, que exige atenção por parte das autoridades sanitárias e consumidores em geral, particularmente no que se refere à água dos mananciais, como poços, minas, nascentes, lagos, entre outros, destinados ao consumo humano, visto que sua contaminação pode torná-las um veículo de transmissão de doenças as quais influenciam diretamente na saúde da população (AMARAL, 2003). Uma água de qualidade duvidosa pode ser responsável por muitos problemas na saúde da população que a consomem. A necessidade de qualidade da água é o propósito primário para a proteção da saúde do homem e das populações (PALUDO, 2010).

A qualidade necessária da água distribuída para consumo é a potabilidade, ou seja, deve estar livre de qualquer contaminação, seja esta de origem microbiológica, química, física ou radioativa, não devendo, em hipótese alguma, oferecer riscos à saúde humana. Além de ser isenta de contaminantes, deve apresentar certos requisitos de ordem estética. Entre os contaminantes biológicos são citados organismos patogênicos, principalmente, protozoários e helmintos, que veiculados pela água podem, através da sua ingestão, parasitar o organismo humano.

As pessoas precisam desenvolver habilidades, sensibilidades, conhecimentos e procedimentos para assim, melhorar a qualidade da água de consumo humano. Assim, a implementação de estratégias de educação ambiental que busquem conscientizar as

comunidades sobre a importância da preservação das águas para a melhoria da qualidade de vida, valorizando o conhecimento local, a participação da comunidade e o conhecimento de suas necessidades, entre outras, pode contribuir para assegurar a oferta e o acesso à água potável.

O centro urbano do município de Campos dos Goytacazes é abastecido pelo Rio Paraíba do Sul, enquanto os locais não abastecidos pelo rio utilizam a água captada por poços profundos da empresa Águas do Paraíba ou ainda por poços particulares rasos do tipo cacimba. Os poços do tipo cacimba, também conhecidos como poços simples ou poços caipira, são aqueles perfurados até o início do lençol freático de modo manual, apresentando como maior vantagem seu baixo custo. Entretanto, a água proveniente dos poços rasos dificilmente é própria ao consumo humano, já que é facilmente contaminada por fossas sépticas e resíduos sólidos, além de apresentar baixa vazão e secar em estações de pouca chuva. Embora os poços do tipo cacimba ofereçam diversos riscos à saúde humana e de animais, essa é a única alternativa para a parcela da população que não possui acesso à água tratada proveniente do Rio Paraíba do Sul ou dos poços profundos da Águas do Paraíba.

Diante disso, o objetivo geral da presente pesquisa é determinar os níveis de contaminação ambiental por microrganismos de veiculação hídrica, através do diagnóstico molecular de protozoários entéricos em poços rasos de áreas urbanas e rurais de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. Para isso, pretendemos identificar espécies de protozoários com potencial risco à saúde pública, como *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Enterocytozoon bienersi*, *Balantidium* spp., *Entamoeba* spp., e *Blastocystis* spp. na água de consumo da população através do isolamento do DNA e amplificação utilizando primers específicos. Também temos como objetivo informar através de um panfleto informativo e dialogar sobre as protozooses que estão acometendo as pessoas, principais formas de contágio e como prevenir de uma possível infecção.

## REVISÃO DE LITERATURA

O abastecimento de água no centro urbano de Campos dos Goytacazes é realizado por captação no Rio Paraíba do Sul. Os distritos que não são abastecidos pelas águas provenientes do Rio Paraíba recebem água captada através de poços profundos pela Empresa Águas do Paraíba. Mas no município existe um grande consumo de água por poços particulares, sendo rasos e do tipo cacimba, onde em certos locais são utilizados como única fonte de abastecimento. Estes poços, do tipo cacimba, que as pessoas perfuram maciçamente na cidade de Campos dos Goytacazes, são vulneráveis a diversos tipos de poluição e/ou contaminação, como: por fossas sépticas, por tubulações de esgoto com fissuras, por disposição inadequada de resíduos sólidos e por muitas outras formas (Alves et al., 2010).

Apesar do notável avanço no diagnóstico e tratamento das doenças infectocontagiosas e parasitárias nas últimas décadas, medidas preventivas e tratamento não estão disponíveis universalmente, principalmente nas áreas mais pobres do mundo (Hotez; Kamath, 2009). Estudos epidemiológicos contribuem para o controle e prevenção de doenças, mas algumas continuam responsáveis por altas taxas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, incluindo as causadas por microrganismos de veiculação hídrica e que são muitas das vezes negligenciados por profissionais da saúde (Savioli et al., 2008).

Uma das causas do aumento do número de casos dessas doenças é o baixo desenvolvimento humano, que pode criar condições de transmissão ao invés de evitar sua propagação (Thompson, 2001). Alterações do meio ambiente e ecossistema visando modernização, tais como desmatamento para construção de estradas e desenvolvimento comercial (especialmente pecuária e agricultura), habitação e construções de hidrelétricas, tem impacto significativo no ciclo de muitas dessas doenças, podendo facilitar a disseminação dos patógenos (Patz et al., 2000). Alterações climáticas também são determinantes para maior incidência dessas doenças e os seres humanos são diretamente responsáveis através de atividades industriais e queima de combustíveis fósseis, elevando a concentração de monóxido de carbono atmosférico e

outros gases tóxicos (Moriarty; Honnery, 2010). O aumento da temperatura, radiação solar, umidade e precipitação contribuem para a instabilidade dos vetores e mais fácil disseminação de microrganismos (Semenza; Menne, 2009).

Os parasitas intestinais causam morbidade e mortalidade em todo o mundo, especialmente nos países em desenvolvimento (Adejumoke e Morenikeji, 2015). Globalmente, cerca de 3,5 bilhões de pessoas são afetadas; 450 milhões estão adoecendo e 200 mil morrem anualmente de infecções parasitárias intestinais (Wegayehu et al., 2013; Stofer, 2014). Em países com recursos limitados, quase 300 milhões de pessoas sofrem de morbidade grave (Duedu et al., 2014; Endale et al., 2018). Parasitas intestinais causam diarreia, anemia, retardo de crescimento, fraqueza física, baixo desempenho educacional, retardo de crescimento em crianças e outros problemas de saúde física e mental (Endale et al., 2018). Os parasitas intestinais são transmitidos principalmente por via fecal-oral, principalmente por ingestão de alimentos e água contaminados ou durante o contato direto das mãos com a boca (Nazemi et al., 2012; Abdelrahim et al., 2017).

A criptosporidiose é uma zoonose causada pelo protozoário *Cryptosporidium* spp. que tem sido um problema de saúde pública principalmente devido a relatos de surtos em creches, em pacientes imunossuprimidos, em relatórios de transmissão pela água e também devido a forma infectante do parasito ser resistente aos desinfetantes mais comuns adotados nas estações de tratamento de água. A infecção pode ser assintomática, com sinais clínicos leves na forma de diarreia espontânea. A principal fonte de disseminação deste parasito no meio ambiente é através das fezes de vários animais (BALDURSSON e KARAMIS, 2011). Esta espécie já foi detectada em bovinos (WANG et al., 2018), ovinos e caprinos (KAUPKE et al., 2017), cangurus (ZAHEDI et al., 2018), roedores (DANISOVÁ et al., 2017) e cães (GIL et al., 2017).

A giardíase além de ser zoonose e exercer um impacto significativo na saúde pública, também é uma doença comum em animais domésticos e animais de companhia; portanto, é de importância para a saúde veterinária (FENG e XIAO; 2011). *Giardia lamblia* que apresenta seus genótipos classificados de acordo com a especificidade pelo hospedeiro. Os genótipos A e B são considerados potencialmente

zoonóticos, pois infectam humanos e outros hospedeiros mamíferos, incluindo animais de estimação (como cães e gatos). Os genótipos C, D, E, F e G são aparentemente hospedeiro-específicos. Os genótipos C e D já foram descritos em cães (MONIS et al., 1998); o genótipo E foi isolado de animais de pasto ou rebanho (EY et al., 1996); genótipo F, específico para gatos (MAYRHOFER et al., 1995); o genótipo G foi encontrado exclusivamente em ratos e camundongos (MONIS et al., 1999); o genótipo H foi descrito a partir de fezes de vertebrados marinhos (LASEK-NESELQUIST et al., 2010). Contudo, mais estudos de caracterização molecular se fazem necessários a fim de elucidar a complexidade que envolve a dinâmica de transmissão de *G. lamblia*. Embora a divisão em genótipos e sua afinidade pelo hospedeiro sejam mantidos até os dias de hoje, a caracterização genotípica de *G. lamblia* ainda não se encontra totalmente consubstanciada. Estudos recentes vêm demonstrando a infecção de alguns genótipos em hospedeiros que transcendem a classificação. Os genótipos C e D, por exemplo, já foram relatados em felinos (PALMER et al., 2008) e humanos (TRAUB et al., 2009). O genótipo E recentemente foi descrito em coelhos (QI et al., 2015) e primatas não humanos (DU et al., 2015), mas já havia sido descrito anteriormente em roedores e casos excepcionais em gatos (LEBBAD et al., 2010) e humanos (SPRONG et al., 2009). O genótipo F foi descrito em porcos (ARMSON et al., 2009) e bovinos (CARDONA et al., 2015). Embora se acredite que a infecção por *Giardia* esteja associada a perdas econômicas pela ocorrência de diarreia, baixo crescimento e até morte em animais de produção (CASTRO-HERMIDA et al., 2007), apenas alguns estudos foram realizados para avaliar o efeito da giardíase na taxa de produção ou crescimento na pecuária (FENG e XIAO, 2011).

A microsporidiose é causada pelo *Enterocytozoon bieneusi*. Essa espécie já foi relatada em várias espécies de animais selvagens e domésticos, incluindo cães, gatos, suínos e bovinos (DENGJEL et al., 2001). Pesquisas descobriram que porcos e pombos tinham genótipos de *E. bieneusi* potencialmente infecciosos para humanos (DENGJEL et al., 2001). Em um estudo feito nos Estados Unidos e em outros países, os bovinos estavam infectados principalmente com *E. bieneusi* específico do hospedeiro, mas também carregavam alguns genótipos encontrados anteriormente em seres humanos

e, portanto, a infecção era potencialmente zoonótica (SANTIN et al., 2005). No total, seis genótipos de *E. bieneusi* foram encontrados independentemente em animais e humanos (LEELAOOVA et al., 2006), e todos estão geneticamente relacionados a um grupo de genótipos considerados com ampla especificidade de hospedeiro (CAMA et al., 2007).

Balantidíase é uma doença zoonótica causada pelo protozoário *Balantidium coli* e o principal reservatório desse patógeno são os suínos. O parasito já foi descrito em uma ampla gama de mamíferos, além de humanos (SOLAYMANI-MOHAMMADI et al., 2005), incluindo primatas não humanos (HINDE, 2007), suínos (NAVARRO-GONZALEZ et al., 2013) e javalis (SOLAYMANI-MOHAMMADI et al., 2005; NAVARRO-GONZALEZ

et al., 2013), bovinos e búfalos (PAUL et al., 2019), ovelhas e cabras (JAMIL et al., 2015), camelos (COX, 2005), equídeos (KHAN e FALLON, 2013), roedores (BOGDANOVICH, 1955) e aves (PONCE-GORDO et al., 2008). Em diferentes estudos, sugeriu-se que infecções por *B. coli* em animais poderiam afetar diretamente o desenvolvimento da prole causando mortalidade ou reduzindo o ganho de peso (BAURI et al., 2012) ou indiretamente afetar a composição do leite na mãe (HINDE, 2007).

Amebíase é a doença causada pela *Entamoeba histolytica* e, com base no local da infecção, a amebíase é dividida em dois tipos: amebíase intestinal e extra-intestinal. A amebíase extra-intestinal é um estágio avançado da infecção e, se não receber a terapia adequada, pode ser fatal (NOWAK et al., 2015). A amebíase é raramente relatada, embora a doença ainda esteja em terceiro lugar na maioria das mortes originadas por agentes parasitários após malária e esquistossomose. Pacientes com amebíase subclínica por um longo período provavelmente se tornarão amebíase extra-intestinal, o que geralmente resulta em fatalidade. Esses fenômenos de amebíase geralmente são negligenciados e difíceis de eliminar em uma comunidade ou estado (CORNICK e CHADEE, 2017). *Entamoeba* é um gênero que pode infectar todas as classes de vertebrados e alguns invertebrados. Abrange várias espécies, incluindo *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. polecki*, *E. nutalli*, *E. chattoni*, *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. ecuadoriensis* e *E. bangladesh*. Primatas não humanos abrigam várias *Entamoeba* spp. de variada importância para a saúde humana e animal doméstica. O complexo de

espécies de *E. histolytica* (*E. histolytica*, *E. dispar* e *E. moshkovskii*) é morfologicamente indistinguível, mas possui diferentes capacidades de virulência (EKANAYAKE et al., 2006).

Blastocistose é uma doença causada pelo *Blastocystis* spp., um protista anaeróbico estrito que pode comprometer o trato gastrointestinal de animais domésticos e selvagens como bovinos, caprinos, ovinos, suínos, aves, roedores, girafas, veados, camelos, rinocerontes, marsupiais e cães, além de humanos, indicando seu alto potencial zoonótico (DEL COCO et al., 2017). É um parasita com ampla diversidade genética, apresentando numerosos subtipos moleculares diferentes (ST) com características morfológicas semelhantes. Possui pelo menos 17 subtipos designados como ST1 a ST17 (DEL COCO et al., 2017). Além disso, é importante destacar que em 2017, Zhao e colaboradores (2017) descreveram possíveis novos subtipos denominando-os de ST18-ST22.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local de execução**

As técnicas laboratoriais e moleculares foram realizadas no Núcleo de Pesquisas Avançadas em Parasitologia (NUPAP) do Laboratório de Sanidade Animal (LSA), pertencente ao Centro de Ciências e Pesquisas Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) localizado no Hospital Veterinário (HV/UENF).

### **Coleta de amostras**

Foram coletados 10 litros de água de poços rasos de áreas urbanas e rurais de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. As amostras de água bruta foram armazenadas em galões inox previamente esterilizados para encaminhamento ao laboratório. Para remover o excesso de matéria orgânica, uma pré-filtração foi realizada sob vácuo (Figura 1) usando papel de filtro qualitativo. Posteriormente as amostras foram filtradas através de um filtro de fibra de vidro com 1,2 µm de porosidade por meio de

um dispositivo de vácuo. Para a recuperação dos microorganismos, o filtro foi lavado PBS e Tween 80 a 0,1% (Hamdy et al., 2019). Todo equipamento de filtração foi esterilizado com hipoclorito de sódio a 5%, etanol 70% e água MilliQ antes e entre cada filtração. Após esta etapa, foi feita extração de DNA, seguida de PCR para diagnóstico molecular de cada espécie.



Figura 1. Bomba à vácuo utilizada na pré-filtração e filtração da água.

### Extração de DNA

Foi utilizado o DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen®) com reagentes fornecidos pela própria empresa com ligeiras modificações no protocolo (SANTÍN et al., 2004). Após descongelamento das amostras, 80µL foi misturado a 180µL de tampão ATL e completamente homogêneas em vortex. Após esta etapa, foram adicionados 20µL de proteinase K (20mg/mL) e novamente a mistura foi homogênea. Os tubos foram então incubados overnight a 55°C e foi então adicionado 200µL de tampão AL. O protocolo restante foi seguido de acordo com as orientações do fabricante, com apenas uma exceção: para se aumentar a quantidade de DNA recuperado, o ácido nucléico foi eluído em 70µL de tampão AE.

### Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Todas as amostras serão examinadas pela PCR para diagnóstico de *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Enterocytozoon bieneusi*, *Balantidium* spp., *Entamoeba* spp. e *Blastocystis* spp., com iniciadores específicos em termociclador Eppendorf® Mastercycler® Personal.

#### *Cryptosporidium* spp.

Foi utilizado o protocolo de nested PCR, com amplificação em duas etapas de um fragmento de 830 pb do gene 18S rRNA. Para amplificação primária foram utilizados os seguintes iniciadores: CRYPTOOF (5'-TTCTAGAGCTAATACATGCG-3') e CRYPTOR (5'-CCCATTTCCTTCGAAACAGGA-3'); e para a amplificação secundária: AL1598 (5'-AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA-3') e AL3032 (5'-GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG-3'). O procedimento de amplificação foi realizado com os seguintes componentes para a amplificação primária: tampão PCR 1x; MgCl<sub>2</sub> (3mM); dNTP (0,2mM), Taq (2,5U) (Qbiogene®); BSA (2,5μL-0,1g/10mL); 1μM de cada um dos iniciadores e 1μL de DNA, em um volume final de 25μL. A amplificação secundária contém: tampão PCR 1x; MgCl<sub>2</sub> (1,5mM); dNTP (0,2mM); Taq (2,5U), BSA (2,5μL-0,1g/10mL); 1μM de cada um dos iniciadores e 1μL do produto da primeira reação, em um volume final de 25μL. Para a amplificação primária foram realizados os seguintes ciclos no termociclador: 94°C/3 min; 35 ciclos de 94°C/45s, 59°C/45s e 72°C/1 min; e um último ciclo de 72°C/7 min. Para a amplificação secundária: 94°C/3 min; 40 ciclos de 94°C/30s, 58°C/90s e 72°C/2 min; e um último ciclo de 72°C/7 min (XIAO et al., 1999).

#### *Giardia* spp.

O DNA extraído foi submetido a nested-PCR para amplificação de fragmentos dos genes conservados que codificam a proteína Glutamato Desidrogenase (gdh) e Beta-Giardina (β-gia). A amplificação por PCR dos genes foi realizada em volume final de 25μL contendo 12,5 μL de GoTaq® Hot Start Green Master Mix (Promega®, USA), 0,5 μL de cada

um dos iniciadores (10 pmol) e 1  $\mu$ L de DNA. Para a nested PCR foi utilizado o mesmo protocolo, trocando o DNA da amostra pelo do produto de PCR da primeira reação. Para amplificação primária (754pb) do gene *gdh* foram utilizados os iniciadores GDH 1 (5'-TTCCGTRTYCAGTACAACCTC-3') e GDH 2 (5'-ACCTCGTTCTGRGTGGCGCA-3') e para amplificação secundária de um fragmento de cerca de 532pb foram utilizados os iniciadores GDH 3 (5'-ATGACYGAGCTYCAGAGGCACGT-3') e GDH 4 (5'-GTGGCGCARGGCATGATGCA-3'). As condições de amplificação primária e secundária do fragmento do gene *gdh* foram incubação inicial de 94°C/2 min, 35 ciclos de 94°C/30s, 55°C/30s e 72°C/1 min e, extensão final a 72°C/7 min (CACCIÒ et al., 2008).

Para amplificação primária (753pb) do gene  $\beta$ -gia foram utilizados os iniciadores G7 (5'-AAGCCCGACGACCTCACCCGAGTGC-3') e G759 (5'-GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC-3') e para amplificação secundária (511pb) foram utilizados os iniciadores  $\beta$ -GIAF (5'-GAACGAACGAGATCGAGGTCCG-3') e  $\beta$ -GIAR (5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3'). O ciclo da primeira amplificação foi incubação inicial de 94°C/2 min, 35 ciclos de 94°C/30s, 62°C/30s e 72°C/1 min e, extensão final a 72°C/7 min. O ciclo da segunda amplificação é semelhante ao da primeira sendo a temperatura de anelamento de 55°C (CACCIÒ et al., 2002; LALLE et al., 2005).

### *Enterocytozoon bieneusi*

As reações primárias e secundárias da PCR foram realizadas com um conjunto de iniciadores específicos para *E. bieneusi*, que amplificam a região ITS dos genes da subunidade ribossomal RNA: EBITS3 (5'-GGTCATAGGGATGAAGAG-3') e EBITS4 (5'-TTCGAGTTCTTTCGCGCTC-3') como os iniciadores externos, e EBITS1 (5'-GCTCTGAATATCTATGGCT-3') e EBITS2.4 (5'-ATCGCCGACGGATCCAAGTG-3') como os iniciadores internos. Os componentes e concentrações utilizados na primeira reação de amplificação foram os seguintes: MgCl<sub>2</sub> (1,5mM); KCl (50mM); Tris-HCl (pH 9 - 20mM); dNTP (0,2mM); Taq (2,5 U); BSA (2,5 $\mu$ L - 0,1g/10ml) e iniciadores (EBITS3 e EBITS4) na concentração de 50pmol cada, em um volume final de 25 $\mu$ L. Após uma desnaturação inicial à 94°C/3 min, as amostras foram submetidas a 35 ciclos de amplificação a 94°C/30s,

57°C/30s e 72°C/40s, seguidos de uma extensão final de 72°C/10 min. As condições para a PCR secundária foram idênticas às da primeira reação, com exceção da utilização dos iniciadores EBITS1 e EBITS2.4 e de utilização de 30 ciclos de amplificação, com temperatura de anelamento de 55°C. As reações vão produzir fragmentos de 435 e 390pb respectivamente (BUCKHOLT et al., 2002).

#### *Balantidium coli*

A região ITS1–5.8s - rRNA — ITS2 de *Balantidium* foi amplificada usando os iniciadores B5F (5'-GCTCCTACCGATACCGGGT-3') e B5R (5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGG-3'). A PCR foi realizada em um volume de reação de 25 µL, contendo 0,5 µL de cada iniciador (10 pmol/µL), 12,5 µL de GoTaq® Hot Start Green Master Mix (Promega®, USA) e 10,5 µL de água e 1 µL de DNA. O ciclo que amplificará um produto de aproximadamente 550pb consistiu de desnaturação inicial de 94°C/5 min, seguida por 30 ciclos de 94°C, 60°C e 72°C, cada um por 1 min e extensão final a 72°C/5 min (PONCE- GORDO et al., 2008).

#### *Entamoeba* spp.

Foram utilizados os iniciadores específicos para *Entamoeba* spp. ENTAM1 (5'-GTTGATCCTGCCAGTATTATATG-3') e ENTAM2 (5'-CACTATTGGAGCTGGAATTAC-3') que amplificam fragmentos de 550 pb em uma única reação de amplificação. O procedimento de amplificação foi realizado em um volume de reação de 25 µL contendo 0,5 µL de cada iniciador (10 pmol/µL), 12,5 µL de GoTaq® Hot Start Green Master Mix (Promega®, USA) e 10,5 µL de água e 1 µL de DNA. Para a amplificação foram realizados os seguintes ciclos no termociclador: 94 °C/5 min; 35 ciclos de 94 °C/1 min, 55 °C/1 min e 72 °C/1 min e uma extensão final de 72 °C/7 min (SUKPRASERT et al., 2008).

#### *Blastocystis* spp.

Foi amplificado o gene SSU rDNA de *Blastocystis* de aproximadamente 550 pb: BF

(5'-GGAGGTAGTGACATAAATC-3') e BR (5'-TGCTTTCGCACTTGTTTCATC-3'). A reação de PCR foi realizada utilizando um volume final de 25  $\mu$ L e cada reação contém 10 mM de TrisHCl (pH 9,0), 50 mM de KCl, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M de dATP, dGTP, dCTP e dTTP, iniciadores (10 pmol), 1,5 U de TaqDNA polimerase (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), 0,05% de albumina de soro bovino (BSA) e 1  $\mu$ L de amostra de DNA alvo. As etapas do ciclo foram compostas por um passo inicial de desnaturação inicial a 95°C/5 min, seguido por 35 ciclos a 95°C/30s, 54°C/30s e 72°C/2 min, além da etapa de extensão final a 72°C/7 min (SANTIN et al., 2011).

### **Eletroforese**

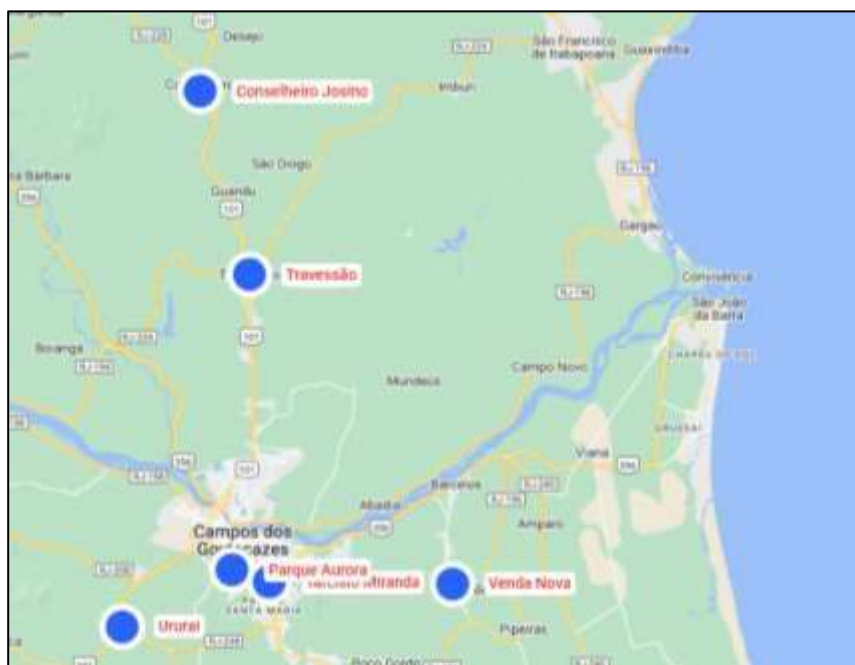
O produto da PCR foi analisado em gel de agarose a 1% ou 2% e visualizado após coloração com GelRed® (Biotium, EUA). No mesmo gel, será carregado o marcador molecular Low DNA Mass Ladder (Invitrogen®), além dos controles positivos já existentes no laboratório e controle negativo. Os produtos amplificados foram visualizados na fotodocumentadora (Gel Logic 200 Imaging System, EUA) e software Carestream Molecular Imaging após a corrida eletroforética.

### **Educação em saúde**

Depois de diagnosticadas as amostras positivas, foi feita uma nova visita a cada local visitado anteriormente para distribuição de folheto informativo e diálogo com as pessoas sobre as protozooses diagnosticadas, principais formas de contágio e como se prevenir de uma possível infecção.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de água de poço foram coletadas em diferentes bairros e distritos de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro como Tarcísio Miranda, Parque Aurora, Ururá, Conselheiro Josino, Venda Nova e Travessão (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa de bairros e distritos de Campos dos Goytacazes visitados para coleta de água de poço. Disponível em: <https://my.atlist.com/map/13ca9178-176a-4e65-9fbd-059af2b1b18a?share=true>.

Foram coletadas 20 amostras de água (Figura 3) de poço (Figura 4) e essas apresentaram propriedades organolépticas variadas, como coloração amarronzada ou amarelada e mau odor. Foram observadas diversas amostras que possuíam terra, barro, mosquitos em estágio larval e outros insetos, o que muitas vezes dificultou o processo de filtração. Apesar disso, havia amostras com aspecto incolor e inodoro, o que não necessariamente significa potabilidade, porém facilitou a sua filtragem.

Algumas pessoas utilizavam a água de poço para tudo como cozinhar, tomar banho e beber, mas em algumas residências foi relatado que a água só não era utilizada

para beber, mas era utilizada para todas as outras necessidades domésticas. Sabemos que a contaminação pela água não se dá somente através de sua ingestão, mas através de alimentos que são lavados com água contaminada e consumidos crus como frutas e verduras (Alemu et al., 2020). Na maioria dos casos, frutas e vegetais são consumidos crus ou levemente cozidos para reter o sabor natural e preservar os nutrientes lábeis ao calor. Outra fonte potencial de infecção é através da água de banho contaminada (Kobayashi et al., 2014).



**Figura 3.** Galões com água de poço coletada em diferentes bairros de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro.



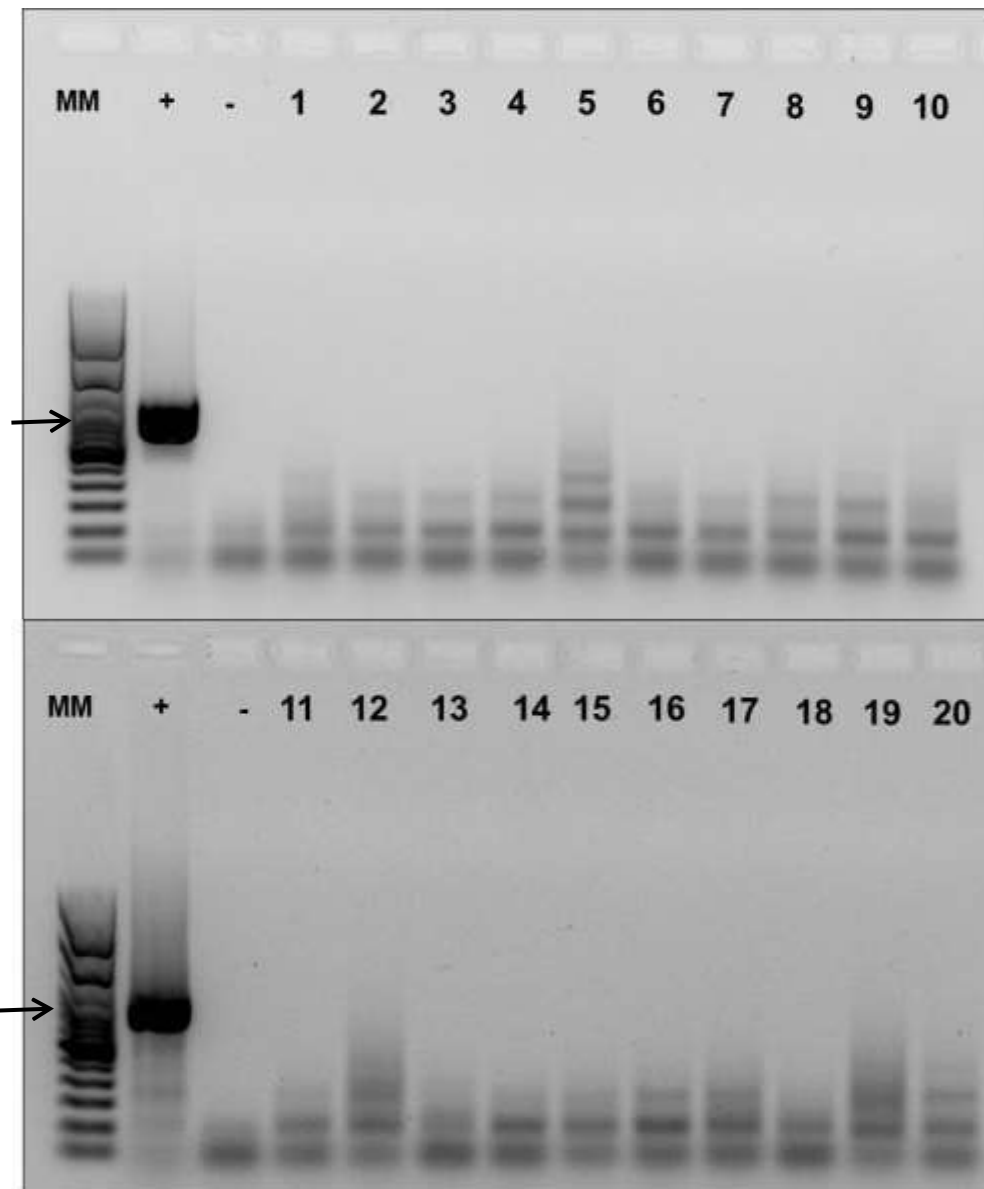
**Figura 4.** Poço de residência localizada no Parque Aurora.

Todas as amostras estavam negativas para *Cryptosporidium*, *Enterocytozoon*, *Blastocystis* e *Entamoeba* (Figuras 5, 6, 7 e 8). Apenas uma amostra de água coletada (5%) no Parque Tarcísio Miranda estava positiva para o protozoário *Balantidium* (Figura 9) e 6 amostras (30%) pertencentes ao bairro Parque aurora (n=2) e distritos Conselheiro Josino (n=2) e Travessão (n=2) estavam positivas para *Giardia* (Figura 10).

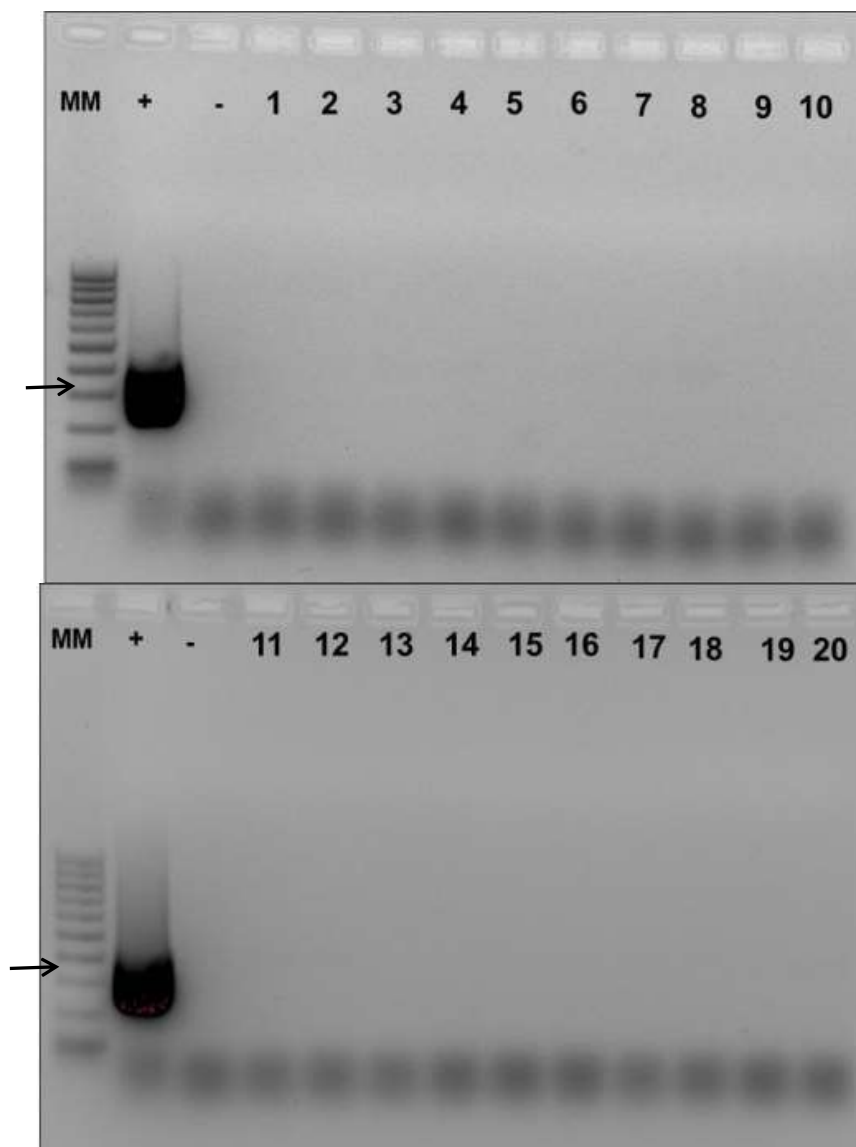
Atualmente existe uma escassez de dados baseados em biologia molecular destes parasitos no Brasil, uma vez que a maioria das pesquisas ainda é realizada apenas por técnicas baseadas em microscopia. Apesar de alguns destes microorganismos poderem ser identificados por técnicas convencionais em microscopia óptica, a identificação correta e segura da espécie só poderá ser confirmada através de estudos moleculares, tais como a PCR seguida de sequenciamento ou RFLP, devido à grande semelhança morfológica existente entre espécies. Além disso, as técnicas moleculares

são comprovadamente mais sensíveis que às de microscopia, o que minimiza, portanto, as chances de ocorrência de resultados falso-negativos em amostras com pouca quantidade de cistos e oocistos (Adeyemo et al., 2018). De acordo Asheri-Arnon et al. (2018), o primeiro passo para responder e minimizar os riscos à saúde pública só pode ser alcançado por meio da detecção rápida de contaminantes e por monitoramento contínuo.

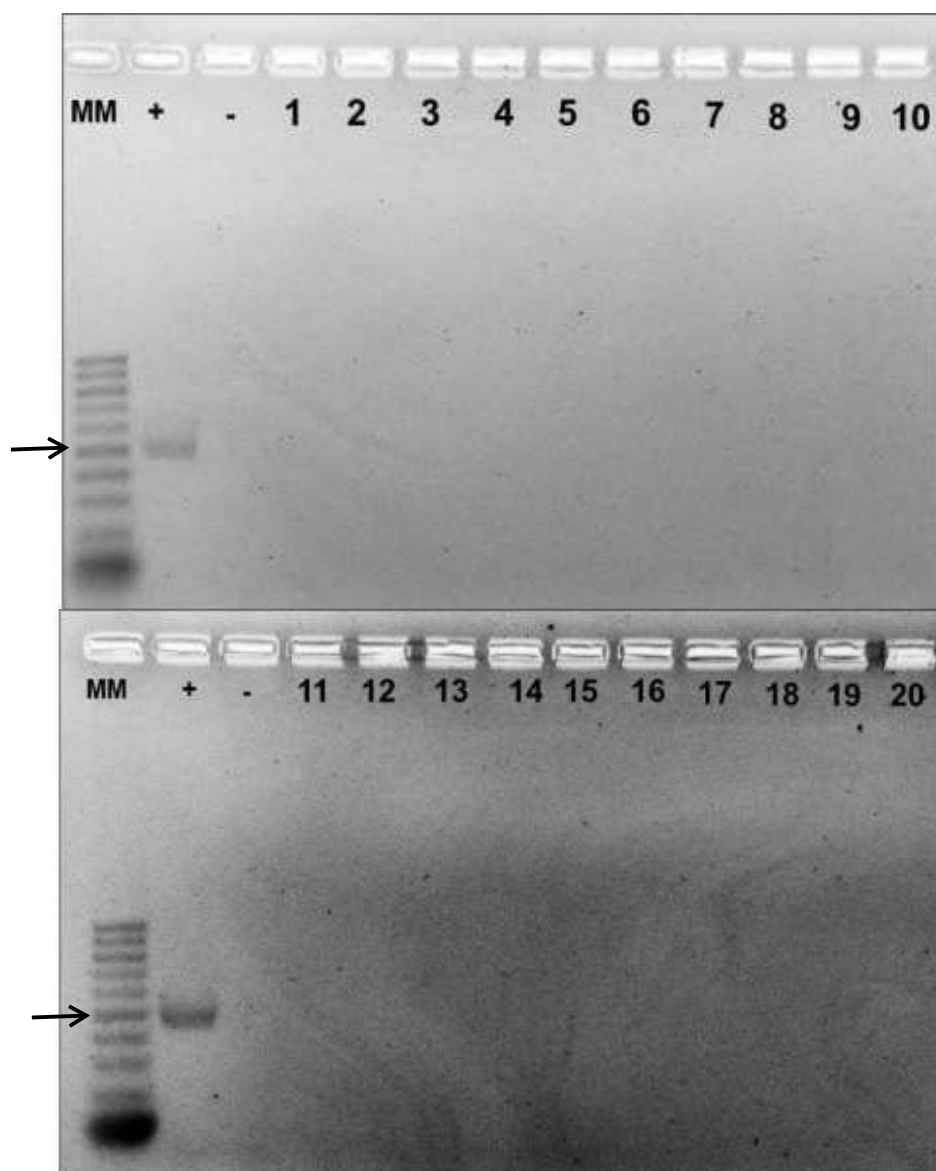
A forma de resistência dos protozoários que os fazem sobreviver aos processos de cloração da água e a elevada persistência em condições ambientais adversas são fatores que contribuem para a ampla dispersão de protozoários no ambiente (Fayer et al., 2000).



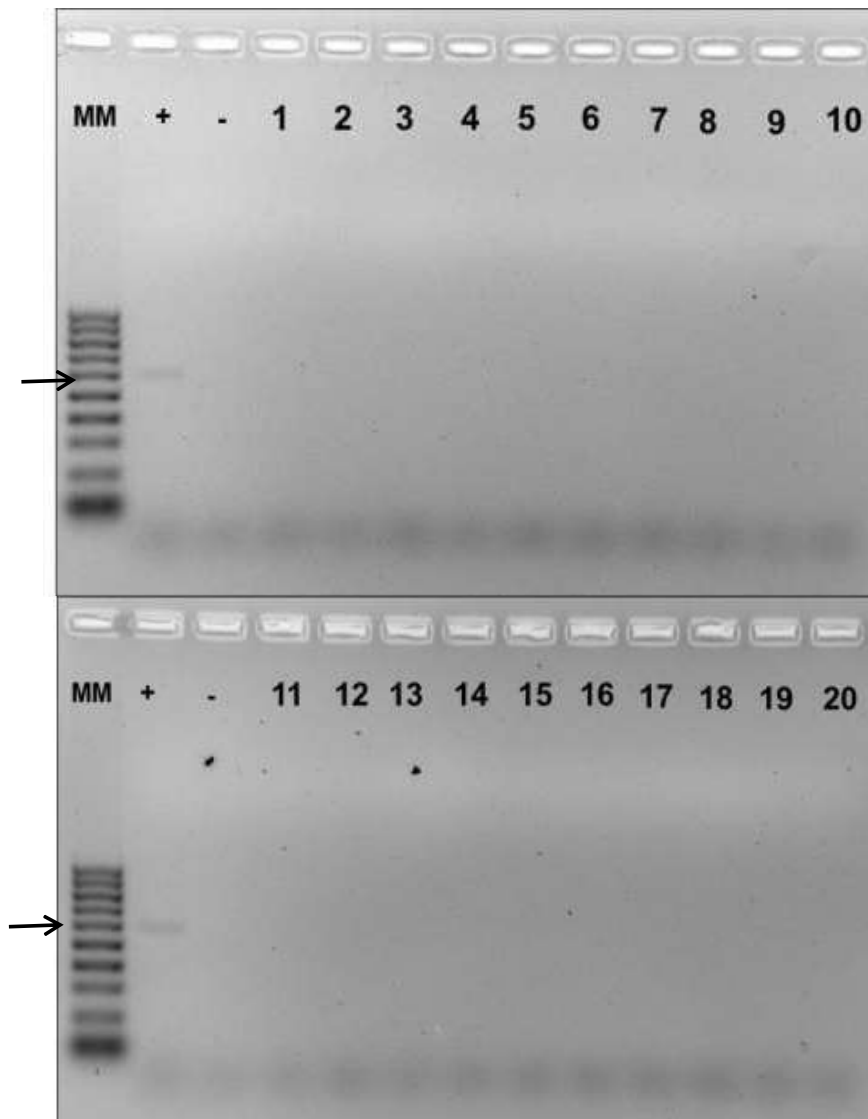
**Figura 5.** Eletroforese em gel de agarose (1%) com os produtos da nested PCR do gene 18S rRNA de oocistos de *Cryptosporidium*. Marcador de peso molecular (MM); controle positivo (+); controle negativo (-) e amostras de água de poço de 1 a 20 negativas. A seta indica a posição relativa de um produto de PCR de aproximadamente 800 pb.



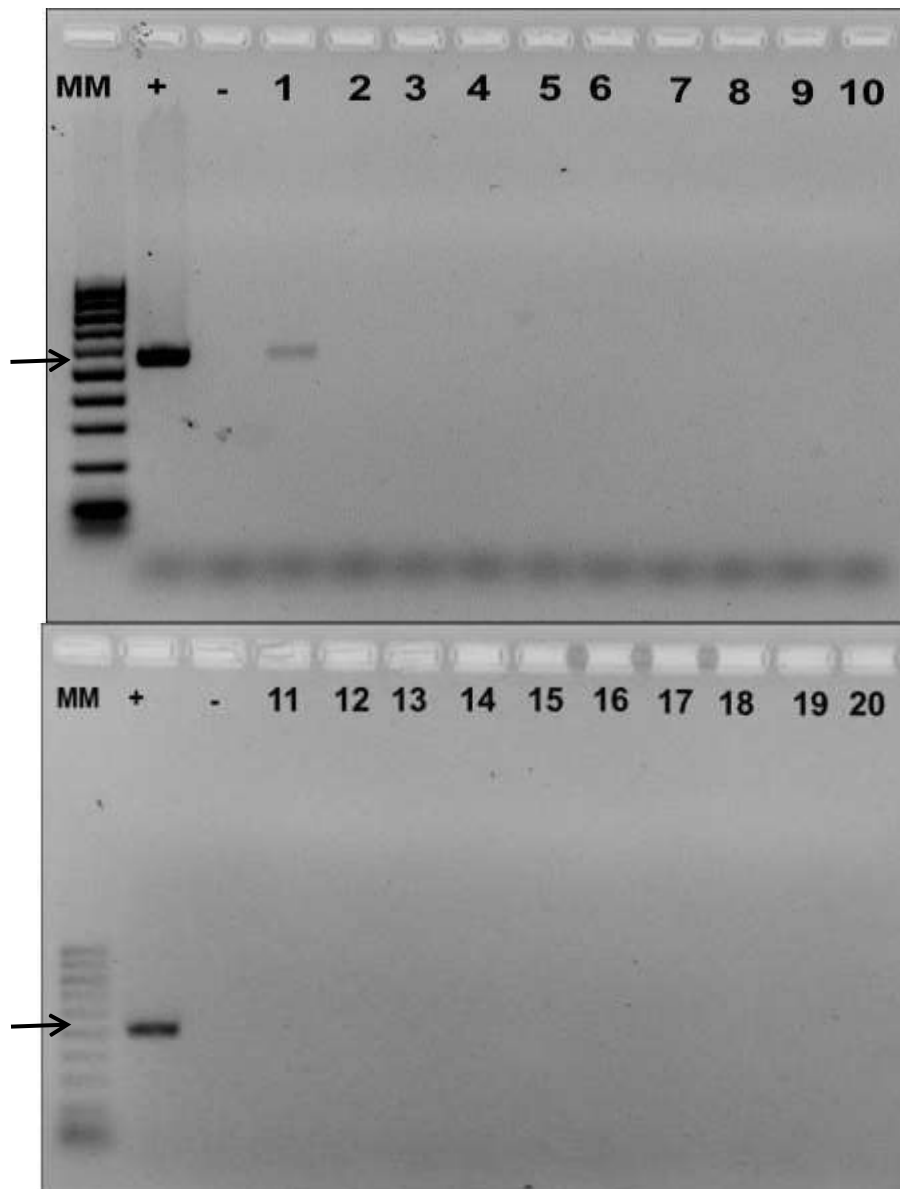
**Figura 6.** Eletroforese em gel de agarose (1,8%) com os produtos da nested PCR da região ITS de *Enterocytozoon*. Marcador de peso molecular (MM); controle positivo (+); controle negativo (-) e amostras de água de poço de 1 a 20 negativas. A seta indica a posição relativa de um produto de PCR de aproximadamente 390 pb.



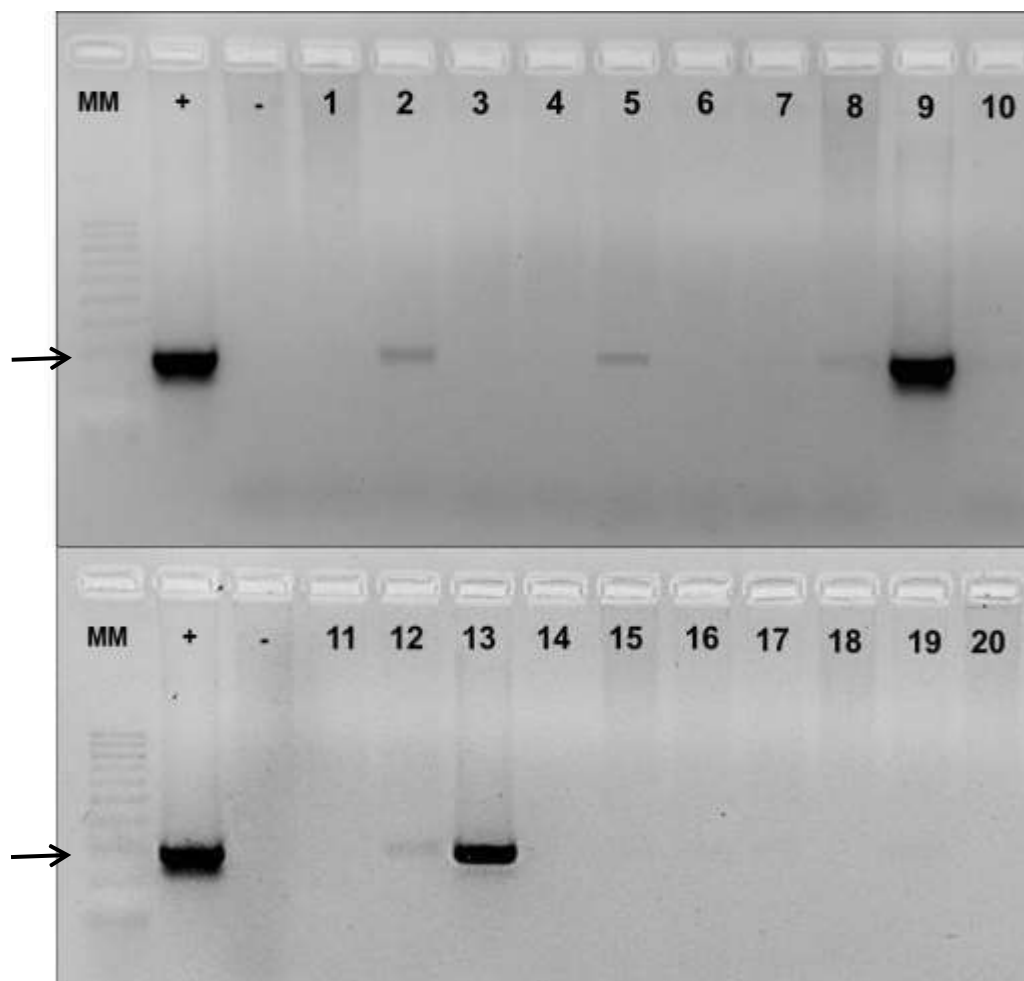
**Figura 7.** Eletroforese em gel de agarose (1,5%) com os produtos da PCR do gene SSU rDNA de *Blastocystis*. Marcador de peso molecular (MM); controle positivo (+); controle negativo (-) e amostras de água de poço de 1 a 20 negativas. A seta indica a posição relativa de um produto de PCR de aproximadamente 550 pb.



**Figura 8.** Eletroforese em gel de agarose (1,5%) com os produtos PCR do gene 18S rRNA de *Entamoeba*. Marcador de peso molecular (MM); controle positivo (+); controle negativo (-) e amostras de água de poço de 1 a 20 negativas. A seta indica a posição relativa de um produto de PCR de aproximadamente 550 pb.



**Figura 9.** Eletroforese em gel de agarose (1,5%) com os produtos da PCR da região ITS1–5.8s-rRNA–ITS2 de *Balantidium*. Marcador de peso molecular (MM); controle positivo (+); controle negativo (-) e amostra 1 de água de poço positiva. A seta indica a posição relativa de um produto de PCR de aproximadamente 550 pb.



**Figura 10.** Eletroforese em gel de agarose (2%) com os produtos da nested PCR do gene 18S rRNA de *Giardia*. Marcador de peso molecular (MM); controle positivo (+); controle negativo (-) e amostras de água de poço 2, 5, 8, 9, 12 e 13 positivas. A seta indica a posição relativa de um produto de PCR de aproximadamente 300 pb.

As fontes de água doce utilizadas pelo ser humano, na forma de poços, rios, riachos e lagos, hoje sofrem um contínuo e crescente processo de degradação em função do despejo de esgotos in natura ou tratados, de fezes de animais (silvestres e de produção), além dos efluentes resultantes das atividades industriais (Dowbor e Tagnin, 2005). Dessa forma, as doenças de veiculação hídrica, sobretudo aquelas

causadas pelos protozoários intestinais, são um dos principais problemas de Saúde Pública (Smith et al., 2006).

A ingestão de apenas 10-25 cistos de *Giardia* é suficiente para causar doença (Rendtorff, 1954), mas somente indivíduos sintomáticos são submetidos ao tratamento, de modo que os portadores assintomáticos apresentam grande significado para a saúde pública, por atuarem como fonte de cistos (Ortega e Adam, 1997; Thompson, 2000). Diante disso, é cada vez mais importante que a população seja informada sobre os riscos de se adquirir uma infecção e quais medidas de prevenção devem ser tomadas para se evitar a contaminação.

Um folheto informativo (Anexo) foi confeccionado para ser distribuído aos moradores com informações sobre os principais parasitas intestinais de veiculação hídrica, principais sintomas, formas de prevenção e contágio. A educação em saúde é uma ferramenta de extrema valia para difundir conhecimento, desconstruir falsos conceitos e consequentemente ajudar no controle de doenças. É importante que haja estratégias de educação em saúde, pois através do compartilhamento de conhecimento é possível fornecer informações sobre características biológicas e epidemiológicas de parasitos intestinais que podem facilitar a compreensão das vias de infecção e, consequentemente, auxiliar na prevenção.

Pode-se concluir que a contaminação da água de poço por protozoários pode estar ocorrendo por meio de deposição fecal e práticas incorretas de descarte de águas residuais. Diante disso, se faz necessário o desenvolvimento de estratégias de prevenção visando garantir a qualidade da água e de alimentos. Além disso, a identificação da espécie através do sequenciamento do fragmento de DNA amplificado é importante para se estabelecer a real relação deste protozoário e o seu potencial hospedeiro.

## REFERÊNCIAS

ABDELRAHIM, A. Role of contaminated fruits in the transmission of intestinal parasites in Khartoum Central Market-Khartoum State [Doctoral dissertation, Sudan University of Science & Technology]; Available from: <http://repository.sustech.edu/handle/123456789/18395>, 2017.

ADEJUMOKE, A; MORENIKEJI, O. Prevalence of intestinal parasites in vegetables sold in major markets in Ibadan city, south-west Nigeria. *Glob J Pure Appl Sci.*;21(1):7–12, 2015.

ADEYEMO, F.E.; SINGH, G; REDDY, P.; STENSTRÖM, T.A. Methods for the detection of *Cryptosporidium* and *Giardia*: From microscopy to nucleic acid based tools in clinical and environmental regimes. *Acta Tropica*, v.184, p. 15-28, 2018.

ALEMU, G; NEGA M; ALEMU, M. Parasitic Contamination of Fruits and Vegetables Collected from Local Markets of Bahir Dar City, Northwest Ethiopia. *Res Rep Trop Med.*;11:17-25, 25 Mar. 2020.

ALVES, M.G.; COSTA, A.N.; POLIVANOV, H.; da SILVA Jr., G.C.; da COSTA, M.C.O. Qualidade das águas de poços rasos provenientes de áreas urbanas e rurais de Campos dos Goytacazes (RJ). *Águas Subterrâneas*. Recuperado de <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22944>, 2010.

ARMSON, A.; YANG, R.; THOMPSON, J.; JOHNSON, J.; REID, S.; RYAN, U.M. *Giardia* genotypes in pigs in Western Australia: prevalence and association with diarrhea. *Experimental Parasitology*, v. 121, p. 381-383, 2009.

ASHERI-ARNON, T.; EZRA, S.; FISHBAIN, B. Contamination detection of water with varying routine backgrounds by UV-spectrophotometry. *J. Water Resour. Plann. Manag.* 144 (9), 2018.

BALDURSSON, S; KARAMIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of world outbreaks — an update 2004-2010. *Water Research*, v. 45, p. 6603-

6614, 2011.

BAURI, R.; RANJAN, R.; DEB, A.; RANJAN, R. Prevalence and sustainable control of *Balantidium coli* infection in pigs of Ranchi, Jharkhand, India. *Veterinary World*, v. 5, p. 94-99, 2012.

BOGDANOVICH, V.V. Spontaneous balantidiasis in rats. *Meditssinskaia Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*, v. 24, p. 326-329, 1955.

BUCKHOLT, M.A.; LEE, J.H.; TZIPORI, S. Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine: an 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. *Applied Environmental Microbiology*, v. 68, p. 2595-2599, 2002.

CACCIÒ, S.M.; De GIACOMO, M.; POZIO, E. Sequence analysis of the betagiardin gene and development of a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *International Journal of Parasitology*, v. 32, p.1023-1030, 2002.

CACCIÒ, S.M.; RYAN, U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 160, p. 75-80, 2008.

CAMA, V.A.; PEARSON, J.; CABRERA, L.; PACHECO, L.; GILMAN, R.; MEYER, S.; ORTEGA, Y.; XIAO, L. Transmission of *Enterocytozoon bieneusi* between a Child and Guinea Pigs. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 8, p. 2708–2710, 2007.

CARDONA, G.A.; DE LUCIO, A.; BAILO, B.; CANO, L.; DE FUENTES, I.; CARMENA, D. Unexpected finding of feline-specific *Giardia duodenalis* assemblage F and *Cryptosporidium felis* in asymptomatic adult cattle in Northern Spain. *Veterinary Parasitology*, v. 209, p. 258-263, 2015.

CASTRO-HERMIDA, J.A.; ALMEIDA, A.; GONZALEZ-WARLETA, M.; COSTA, J.M.C.; RUMBO-LORENZO, C.; MEZO, M. Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitology Research*, v. 101, p. 1443-1448, 2007.

CORNICK, S.; CHADEE, K. *Entamoeba histolytica*: Host parasite interactions at the colonic epithelium. *Tissue Barriers*, v. 5, n. 1, p.1-4, 2017.

COX, F.E.G. Human balantidiasis in Iran: are camels reservoir hosts? *Trends in Parasitology*, v. 21, p. 553, 2005.

DANISOVÁ, O.; VALENCAKOVÁ, A.; STANKO, M.; LUPTÁKOVÁ, L.; HATALOVÁ, E.; ČANÁDY, A. Rodents as a reservoir of infection caused by multiple zoonotic species/genotypes of *C. parvum*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. scrofarum*, and the first evidence of *C. muskrat* genotypes I and II of rodents in Europe. *Acta Tropical*, v. 172, p. 29-35, 2017.

DEL COCO, V.F.; MOLINA, N.B.; BASUALDOA, J.A.; CÓRDOBA, M.A. *Blastocystis* spp.: avances, controversias y desafíos futuros. *Revista Argentina de Microbiología*, v. 49, n. 1, p. 110-118, 2017.

DENGJEL, B; ZAHLER, M; HERMANNNS, W; et al. Zoonotic potential of *Enterocytozoon bieneusi*. *J Clin Microbiol*, 39:4495-4499, 2001.

DOWBOR L, TAGNIN A. (org.). Administrando a água como se fosse importante: gestão ambiental e sustentabilidade. São Paulo: Ed. Senac; 2005.

DU, S.Z.; ZHAO, G.H.; SHAO, J.F.; FANG, Y.Q.; TIAN, G.R.; ZHANG, L.X.; WANG, R.J.; WANGHY, Q.I.M.; YU, S.K. *Cryptosporidium* spp., *Giardia intestinalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* in captive non-human primates in Qinling Mountains. *Korean Journal of Parasitology* v. 53, p. 395-402, 2015.

DUEDU, K; YARNIE, E; TETTEH-QUARCOO, P; ATTAH, S; DONKOR, E; AYEH-KUMI, P. A comparative survey of the prevalence of human parasites found in fresh vegetables sold in supermarkets and open-aired markets in Accra, Ghana. *BMC Res Notes*.;7(1). doi:10.1186/1756-0500- 7-836, 2014.

EKANAYAKE, D.K.; ARULKANTHAN, A.; HORADAGODA, N.U.; SANJEEVANI, G.K.M.; KIEFT, R.; GUNATILAKE, S.; DITTUS, W.P.J. Prevalence of cryptosporidium and other enteric parasites among wild nonhuman parasites in Polonnaruwa, Sri Lanka. *The*

American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 74, p. 322-329, 2006.

ENDALE, A; Tafa, B; BEKELE, D; TESTAFAYE, F. Detection of medically important parasites in fruits and vegetables collected from local markets in Dire Dawa, Eastern Ethiopia. Glob J Med Res.;18 (1):29–36, 2018.

EY, P.L.; BRUDERER, T.; WEHRLI, C.; KÖHLER, P. Comparison of genetic groups determined by molecular and immunological analyses of *Giardia* isolated from animals and humans in Switzerland and Australia. Parasitology Research, v. 82, p. 52-60, 1996.

EYDAL, M; KONRÁÖSSON, K. The prevalence of *Balantidium coli* and other zoonotic parasites in Icelandic pigs. Parasitolol Internat, 47:313, 1998.

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

FAYER, R; XIAO, L. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis, 2. ed., Boca Raton, FL: CRC Press, 2007.

FENG, Y.; XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. Clinical Microbiology Reviews, v. 24, n. 1, p. 110-140, 2011.

GIL, H.; CANO, L.; DE LUCIO, A.; BAILO, B.; DE MINGO, M.H.; CARDONA, G.A.;  
FERNÁNDEZ-BASTERRA, J.A.; ARAMBURU-AGUIRRE, J.; LÓPEZ-MOLINA, N;  
CARMENA, D. Detection and molecular diversity of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheltered dogs and cats in Northern Spain. Infection, Genetics and Evolution, v. 50, p. 62-69, 2017.

HAMDY, D.; EI-BADRY, A.; ABD, E.L.; WAHAB, W. Assessment of *Giardia* and *Cryptosporidium* Assemblages/ Species and Their Viability in Potable Tap Water in Beni-Suef, Egypt Using Nested PCR/RFLP and Staining. Iran Journal of Parasitology, v. 14, n. 3, p.368-378, 2019.

HOTEZ, PJ; KAMATH, A. Neglected tropical diseases in Sub-Saharan Africa: Review of

their prevalence, distribution, and disease burden. *PLoS: Neglected Trop Dis*, 3(8):e412, 2009.

JAMIL, M.; IJAZ, M.; ALI, M. Prevalence, hematology and treatment of *Balantidium coli* among small ruminants in and Around Lahore, Pakistan. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, v. 21, p. 123-126, 2015.

KAUPKE, A.; GAWOR, J.; RZEŻUTKA, A.; GROMADKA, R. Identification of pig-specific *Cryptosporidium* species in mixed infections using Illumina sequencing technology. *Experimental Parasitology*, v. 182, p. 22-25, 2017.

KHAN, A.R.; FALLON, P.G. Helminth therapies: Translating the unknown unknowns to known knowns. *International Journal of Parasitology*, v. 43, p. 293- 299, 2013.

KOBAIASHI, M; OANA, K; KAWAKAMI, Y. Bath water contamination with *Legionella* and nontuberculous mycobacteria in 24-hour home baths, hot springs, and public bathhouses of Nagano Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis.*;67(4):276-81, 2014.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA 7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, v. 33, p. 1870-1874, 2016.

LALLE, M.; POZIO, E.; CAPELLI, G.; BRUSCHI, F.; CROTTI, D.; CACCIÒ, S.M. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Internaional Journal of Parasitology*, v. 35, p. 207-213, 2005.

LASEK-NESELQUIST, E.; WELCH, D.M.; SOGIN, M.L. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marinesystems. *International Journal Parasitology*, v. 40, p. 1063-1074, 2010.

LEBBAD, M.; MATTSON, J.G.; CHRISTENSSON, B.; LJUNGSTROM, B.; BACKHANS, A.; ANDERSSON, J.O.; SVARD, S.G. From mouse to moose: multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Veterinary Parasitology*, v. 168, p. 231-

239, 2010.

LEELAYOOVA, S.; SUBRUNGRUANG, I.; SUPUTTAMONGKOL, Y.; WORAPONG, J.; PETMITR, P.C.; MUNGTHIN, M. Identification of genotypes of *Enterocytozoon bieneusi* from stool samples from human immunodeficiency virus-infected patients in Thailand. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, p. 3001-3004, 2006.

MAYRHOFER, G.; ANDREWS, R.H.; EY, P.L.; CHILTON, N.B. Division of Giardia isolates from humans into two genetically distinct assemblages by electrophoretic analysis of enzymes encoded at 27 loci and comparison with *Giardia muris*. *Parasitology*, v. 111, p.11-17, 1995.

MONIS, P.T.; ANDREWS, R.H.; MAYRHOFER, G.; EY, P.L. Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Molecular Biology and Evolution*, v. 16, p. 1135-1144, 1999.

MONIS, P.T.; ANDREWS, R.H.; MAYRHOFER, G.; MACKRILL, J.; KULDA, J.; ISAAC-RENTON, J.L.; EY, P.L. Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. *Parasitology*, v. 116, p. 7-19, 1998.

MORIARTY P; HONNERY, D. A human needs approach to reducing atmospheric carbon. *Energy Policy*, 38:695-700, 2010.

NAVARRO-GONZALEZ, N.; FERNÁNDEZ-LLARIO, P.; PÉREZ-MARTÍN, J.E.; MENTABERRE, G.; LÓPEZ-MARTÍN, J.M.; LAVÍN, S.; SERRANO, E. Supplemental feeding drives endoparasite infection in wild boar in Western Spain. *Veterinary Parasitology*, v. 196, p. 114-123, 2013.

NAZEMI, S; RAEI M; AMIRI, M; CHAMAN, R. Parasitic contamination of raw vegetables in Shahroud, Semnan. *Zahedan J Res Med Sci.*;14(8):84–86, 2012.

NOWAK, P.; MASTALSKA, K.; LOSTER, J. *Entamoeba histolytica* pathogenic protozoan of the large intestine in humans. *Journal of Clinical Microbiology and Biochemical*

Technology, v. 1, p.10-17, 2015.

ORTEGA, YR; ADAM, RD. *Giardia*: overview and update. Clin Infect Dis, 25:545-550, 1997.

PALMER, C.S.; TRAUB, R.J.; ROBERTSON, I.D.; DEVLIN, G.; REES, R.; THOMPSON, R.C. Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. Veterinary Parasitology, v. 154, n. 1-2, p. 142-147, 2008.

PATZ, JA; GRACZYK, TK; GELLER, N; et al. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. Int J Parasitol, 30:1395-1405, 2000.

PAUL, T.R.; BEGUM, N.; SHAHIDUZZAMAN, M.; HOSSAIN, M.S.; LABONY, S.S.; ANISUZZAMAN; DEY, A.R. Balantidiasis, a zoonotic protozoan infection, in cattle and domestic pigs. Bangladesh Journal Veterinary Medicine, v. 17, p. 263- 269, 2019.

PONCE-GORDO, F.; JIMENEZ-RUIZ, E.; MARTÍNEZ-DÍAZ, R.A. Tentative identification of the species of *Balantidium* from ostriches (*Struthio camelus*) as *Balantidium coli*- like by analysis of polymorphic DNA. Veterinary Parasitology, v. 157, p. 41-49, 2008.

QI, M.; XI, J.; LI, J.; WANG, H.; NING, C.; ZHANG, L. Prevalence of zoonotic *Giardia duodenalis* assemblage B and first identification of assemblage *E in rabbit* fecal samples isolates from Central China. Journal of Eukaryotic Microbiology, v. 62, p. 810-814, 2015.

RENDTORFF, RC. The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites. II. *Giardia lamblia* cysts given in capsules. Amer J Hyg, 59:209-220, 1954.  
SANTIN, M.; GOMEZ-MUNOZ, M.T.; SOLANO-AGUILAR, G.; FAYER, R. Development of a new PCR protocol to detect and subtype *Blastocystis* spp. from humans and animals. Parasitology Research, v. 109, p. 205–212, 2011.

SANTÍN, M.; TROUT, J.M.; DUBEY, J.P.; VECINO, J.A.; FAYER, R. *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bieneusi* genotypes in cats from Bogota (Colombia) and genotyping of isolates. Veterinary Parasitology, v. 141, p. 334-339, 2006.

SANTÍN M; TROUT, JM; DUBEY, JP; et al. *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon*

*bieneusi* genotypes in cats from Bogota (Colombia) and genotyping of isolates. *Vet Parasitol*, 141:334-339, 2006.

SANTÍN, M; TROUT, JM; XIAO, L; et al. Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet Parasitol*, 122:103-117, 2004.

SAVIOLI, L; SMITH, H; THOMPSON, A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'neglected diseases Initiative'. *Trends Parasitol*, 22:201-208, 2008.

SCURACCHIO, P. A. Qualidade da Água Utilizada para Consumo em Escolas no Município de São Carlos – SP. Dissertação (Mestrado). Araraquara, 2010, 57p.

SEMENZA, JC; MENNE, B. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis* 9:365-75, 2009.

SMITH, A; REACHER, M; SMERDON, W; ADAK, GK; NICHOLS, G; CHALMERS, RM. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-2003. *Epidemiol Infect*, 134:1141-1149, 2006.

SOLAYMANI-MOHAMMADI, S.; REZAIAN, M.; ANWAR, M.A. Response to Cox: Human balantidiasis in Iran: wild boars or not?. *Trends in Parasitology*, v. 21, p. 554-555, 2005.

SOLAYMANI-MOHAMMADI, S.; REZAIAN, M.; ANWAR, M.A. Human balantidiasis in Iran: an unresolved enigma? *Trends in Parasitology*, v. 21, p. 160-161, 2005.

SPRONG, H.; CACCIÒ, S.M.; VAN DER GIESSEN, J.W.; ZOOPNET NETWORK AND PARTNERS. Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 3, 12, p. 1-12, 2009.

STOFER, J. Adverse Health Effects of Intestinal Parasitic Infections in Rural Peruvian Clinic Patients. Dayton, Ohio: Wright State University; 2014. Available from: <https://corescholar.libraries.wright.edu/mps>. Accessed March 10, 2020.

SUKPRASERT, S; RATTAPRASERT, P.; HAMZAH, Z.; SHIPIN, O.V.;

CHAVALITSEWINKOON-PETMITR, P. PCR detection of *Entamoeba* spp from surface and waste water samples using genus-specific primers. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, v. 39, p. 6-9, 2008.

THOMPSON, RCA. Giardiasis as re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. Int J Parasitol, 30:1259-1267, 2000.

THOMPSON, RCA. The future impact of societal and cultural factors on parasitic disease-some emerging issues. Int J Parasitol, 31:949-959, 2001.

TRAUB, R.J.; INPANKAEW, T.; REID, S.A.; SUTTHIKORNCHAI, C.; SUKTHANA, Y.; ROBERTSON, I.D.; THOMPSON, R.C. Transmission cycles of *Giardia duodenalis* in dogs and humans in temple communities in Bangkok-a critical evaluation of its prevalence using three diagnostic tests in the field in the absence of a gold standard. Acta Tropica, v. 111, p. 125-132, 2009.

WANG, Z.D.; LIU, Q.; LIU, H.H.; LI, S.; ZHANG, L.; ZHAO, Y.K.; ZHU, X. Prevalence of *Cryptosporidium*, microsporidia and *Isospora* infection in HIV-infected people: a global systematic review and meta-analysis. Parasites & Vectors, v. 11, n. 28, p. 1- 19, 2018.

WEGAYEHU, T; TSALLA, T; SEIFU, B; TEKLU, T. Prevalence of intestinal parasitic infections among highland and lowland dwellers in Gamo area, South Ethiopia. BMC Public Health.;13(1). doi:10.1186/ 1471-2458-13-151, 2013.

XIAO, L; ESCALANTE, L; YANG, C; et al. Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. App Env Microbiol, 65: 1578-1583, 1999.

YASON, JA; RIVERA, WL. Genotyping of *Giardia duodenalis* isolates among residents of slum area in Manila, Philippines. Parasitol Res, 101: 681-687, 2007.

ZAHEDI, A.; MONIS, P.; GOFTON, A.W.; OSKAM, C.L.; BALL, A; BATH, A.; BARTKOW, M; ROBERTSON, I.; RYAN, U. *Cryptosporidium* species and subtypes in

animals inhabiting drinking water catchments in three states across Australia. *Water Research*, v. 134, p. 327-340, 2018.

ZHAO, G.H.; HU, X.F.; LIU, T.L.; HU, R.S.; YU, Z.Q.; YANG, W.B.; WU, Y.L.; YU, S.K.; SONG J.K. Molecular characterization of *Blastocystis* sp. in captive wild animals in Qinling Mountains. *Parasitology Research*, v. 116, n. 8, p. 2327-2333, 2017.

## ANEXOS

### FORMAS DE CONTÁGIO

- Ingestão da forma infectante, geralmente em alimentos e/ou água contaminadas com o parasita.
- Penetração de larvas na pele.

Em caso de diarreia persistente, dores abdominais e emagrecimento, procure assistência médica.



VOCÊ SABE O QUE SÃO PARASITÓSES INTESTINAIS?



## DEFINIÇÃO

Parasitoses intestinais são doenças causadas por protozoários e vermes que infectam o trato gastrointestinal tanto de humanos quanto de animais afetando negativamente o sistema de produção.

## PRINCIPAIS SINTOMAS

- Diarreia
- Dores abdominais
- Náuseas
- Vômito
- Falta de apetite
- Perda de peso

## TÍPOS

Algumas dessas parasitoses intestinais são:

- Giardíase
- Amebíase
- Criptosporidiose
- Balantidiose
- Microsporidiose
- Blastocistose
- Isosporíase
- Ascariíase (lombriga)
- Ancilostomíase (amarelão)
- Enterobiíase (oxiuros)

## VEJA COMO SE PREVENIR

- Lavar as mãos antes de comer e após ir ao banheiro.



- Lavar adequadamente os alimentos em água corrente.



- Cozinhar bem os alimentos e não comer carne mal passada.



- Beber somente água filtrada e fervida.



- Manter a casa protegida de moscas, ratos e baratas.



- Evitar andar descalço nas ruas e em lugares sujos.



- Não tomar banho em rios e lagos que você não conhece.

