
Ensaio com águas poluídas como veiculadoras de patógenos para bovinos

Assessment of sewage water as carrier of pathogenic organisms to cattle

Oeliton Ferreira Barbosa^{1,2}; Uriel Franco Rocha¹; Alvimar José da Costa¹; Giane Serafin da Silva^{1,2}; Vando Edésio Soares¹; Vanete Thomaz Soccol³; Valdair Josino Carvalho Landin⁴

Resumo: Águas de um córrego que recebe efluentes de esgotos urbanos da cidade de Jaboticabal, SP que passa dentro da área do Campus, e de um poço artesiano que abastece o Campus da UNESP foram submetidas a análises bacteriológicas e parasitológicas. Paralelamente a essas provas, 16 bovinos com 8 a 16 meses de idade (8 *Bos indicus* e 8 *Bos taurus*) foram confinados e dessedentados (4 com cada fonte d'água) por sete quinzenas. No dia zero, todos os animais receberam uma dose de ivermectina (200 µg/Kg de peso corpóreo) e foram randomizados. Esses animais provieram de propriedades supostamente livres de cisticercose e foram submetidos a exames clínico-laboratoriais, antes e periodicamente, a intervalos regulares. Findas as sete quinzenas, os 16 bovinos foram abatidos e submetidos ao Serviço de Inspeção Federal (SIF). Desses animais foram colhidas amostras de sangue e tecidos para as provas laboratoriais: a) as provas bacteriológicas revelaram que enquanto a fonte de água "potável" apresentou teores de coliformes fecais compatíveis à classificação de água potável (resolução CONAMA 20), as águas do córrego Cerradinho sempre obtiveram a classificação de poluída; b) ao longo das 15 semanas as águas do córrego Cerradinho apresentaram ovos de Cestoda (*Taenia* e *Hymenolepis*) e de Nematoda (*Ascaris*, *Trichuris*, *Capillaria* e Ancylostomidae); c) enquanto um de oito bovinos dessedentados com água potável apresentou-se infectado por *Cysticercus bovis*, quatro dos oito que beberam água do córrego Cerradinho mostraram-se positivos; d) embora as análises parasitológicas mostrem que as águas do córrego estejam carreando ovos do gênero *Taenia*, a presença de um animal soropositivo e de outro com *Cysticercus bovis* na musculatura, ambos do grupo que recebeu água potável, sugerem infecção desses animais na propriedade de origem; e) os testes sorológicos não evidenciaram transmissão de *Leptospira* spp, *Brucella* spp, *Neospora caninum* ou de *Toxoplasma gondii* aos bovinos e, a bioprova conduzida em camundongos, objetivando o diagnóstico de *T. gondii*, confirmou o resultado sorológico; f) os resultados obtidos pelos exames sorológicos e pelos critérios do Serviço de Inspeção Federal apresentaram apenas 6,25% de reciprocidade de diagnósticos.

Palavras-chave: *Taenia saginata*, *Cysticercus bovis*, bovinos, águas poluídas.

Abstract: Water of a brook that receives raw sewage from Jaboticabal, São Paulo State town, that passes through the grounds of the UNESP University campus, and, of the well that provides water to the University's facilities were submitted to bacteriological and parasitological analysis. At the same time, 16 steers aged 8 to 16 months (8 *Bos indicus* and 8 *Bos taurus*), were closed in and given one of each type of water to drink (4 to each water source) for seven fifteen day periods. On day zero all the animals were treated with ivermectin (at a dosage of 200 µg/Kg) and were randomly separated in two groups (one for each water source). The experimental cattle came from farms supposedly free of cysticercosis and underwent clinical and laboratorial testing to detect the presence of this parasite before the beginning and at regular intervals during the experiment. After the seven fifteen day period, the 16 steers were slaughtered and were inspected by the "Serviço de Inspeção Federal – SIF" (Federal Inspection Service). Blood and tissue samples were taken from all animals for laboratorial testing. a) the bacteriological tests revealed that the water from the well, classified as drinking water, had fecal coliform levels compatible to the classification as "drinking water" (CONAMA 20), but the water from the brook "Cerradinho" was classified as polluted in all samples; b) the samples taken during the 15 weeks all showed the presence of eggs of Cestode (*Taenia* and *Hymenolepis*) and Nematode (*Ascaris*, *Trichuris*, *Capillaria* and Ancylostomidae) helminthes; c) while one of eight steers given drinking water from the well was infected with *Cysticercus bovis*, four of the eight that drank water from the Cerradinho brook were infected; d) although the parasitological tests showed the presence of helminth eggs of *Taenia* genus, the finding of one animal with positive serum and another with the parasite embedded in its muscle, both from the group that drank the well water, suggest that theses animals were infected at the farm before the beginning of the experiment; e) the serological tests were negative for *Leptospira* spp, *Brucella* spp, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*, indicating that these pathogens were not transmitted to the animals. Laboratorial tests with mice, to verify the presence of *Toxoplasma gondii*, confirmed the serological tests; f) the results obtained by the serology tests and those of the Federal Inspection Service showed only 6.25% of agreement.

Key words: *Taenia saginata*, *Cysticercus bovis*, cattle, polluted water.

¹ Centro de Pesquisas em Sanidade Animal – CPPAR/UNESP, Campus de Jaboticabal. Zootec., Mestre e Doutor.

² Universidade Camilo Castelo Branco – UNICASTELO – Prof. de Parasitologia Veterinária. e-mail <oeliton@acif.com.br>

³ Departamento de Patologia Básica – Universidade Federal do Paraná.

⁴ Empresa de Pesquisas Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, Uberaba – MG.

1 Introdução

O córrego Cerradinho atravessa vários bairros da cidade de Jaboticabal, de cada um dos quais recebe efluentes não tratados da rede de esgotos urbana, após o que suas águas alcançam e atravessam o Campus da FCAV/UNESP. Essas águas são utilizadas, muitas vezes, para a dessedentação de animais domésticos e como fonte de irrigação agrícola, ainda que o córrego esteja reconhecidamente poluído por fezes humanas e de animais domésticos e silvestres.

Segundo a Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (CETESB), esgoto é o termo empregado para caracterizar os despejos provenientes dos diversos usos das águas, tais como o comercial, o industrial, o agrícola, o de estabelecimentos públicos, os domésticos e ainda, de eventuais infiltrações de águas nas redes.

A composição dos esgotos varia em função das condições socioeconômicas das populações humanas e, entre os organismos patogênicos veiculados pelos mesmos, estão os helmintos causadores de zoonoses entre os quais, os agentes etiológicos da esquistossomose, da fasciolose e da cisticercose, sendo esta última enfermidade de maior importância socioeconômica no Brasil. Este fato é comprovado pelos altos índices de prevalência desta parasitose nos abatedouros brasileiros, conforme demonstração de vários autores (PARDI *et al.*, 1952; FUKUDA, 1996).

De fato, duas espécies de “solitárias” do gênero *Taenia* LINNAEUS, 1758, são, de oeste a leste e de norte a sul, endêmicas na população brasileira (NEVES, 1995).

Coelho e Campos (1995), avaliando a eficiência de algumas técnicas de remoção de ovos de helmintos em esgoto bruto, verificaram a ocorrência de ovos de ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta* e *Taenia* spp. e alertaram para a importância do complexo teníase / cisticercose em saúde pública, uma vez que a maior parte dos ovos deste gênero de cestoda são infectantes para os hospedeiros susceptíveis bovinos, suínos e humanos logo após serem eliminados nas fezes.

De distribuição cosmopolita, *T. saginata* é encontrada em praticamente todos os lugares em que se consoma carne bovina e geralmente é mais freqüente do que a *T. solium* (PARDI *et al.*, 1952; MINOZZO, 1997).

Como já apontavam Pardi *et al.* (1952.) há mais de quatro décadas, a cisticercose em bovinos raramente é generalizada e sua prevalência tem correlação positiva com a densidade demográfica das regiões do país, acompanhando e crescendo concomitantemente ao desenvolvimento econômico-agropecuário regional e alcançando significativa elevação de prevalência com a adoção das tecnologias de confinamento, para recria e engorda de novilhos de corte.

Assim, neste país, se tomado como critério de referência o prejuízo direto imposto por esse tipo de

infecção à pecuária nacional, concluir-se-á que o tributo pecuniário pago pelos bovinocultores é vastamente superior, em valores absolutos, ao expendido pelos suinocultores.

Na presente pesquisa foi analisada a possível veiculação de *Toxoplasma gondii*, de *Neospora caninum*, de *Leptospira* spp e/ou de *Brucella* spp pelas águas do córrego Cerradinho, embora, tenha sido a cisticercose bovina, a base da avaliação da importância sanitária da contaminação do referido córrego com fezes humanas pois, embora a literatura nacional e a internacional enfoquem constantemente a necessidade de se oferecer água de boa qualidade aos animais, poucos são os trabalhos que abordam os aspectos relacionados ao verdadeiro impacto, no sistema de produção, do fornecimento de águas de qualidade inferior, embora no Brasil e em muitos outros países esta seja uma prática corriqueira em muitas propriedades.

Em função do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo realizar o levantamento de informações que permitam ajuizar a importância da poluição do córrego Cerradinho e suas principais conseqüências e implicações em saúde animal (bovinos) e pública.

2 Material e Métodos

2.1 Local e fontes de água

O presente estudo foi conduzido nas instalações do “Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR)” que está implantado no Campus da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV-UNESP), Campus de Jaboticabal. Esta cidade conta com uma população da ordem de 72.000 habitantes e localiza-se na região Norte do Estado, a 21° 15'22” de latitude Sul e 48° 18'66” de longitude Oeste, a 595 metros de altitude. Apresenta clima subtropical temperado, com verão quente e úmido e inverno seco.

Neste estudo foram avaliadas duas fontes de água na dessedentação de bovinos e, no delineamento adotado, a água proveniente do córrego Cerradinho foi considerada a fonte “poluída”, e aquela que abastece as edificações do CPPAR/UNESP/FCAVJ (poço artesiano) foi designada como a fonte de água “potável”. A água fornecida para os animais era bombeada e armazenada em tambores de 200 litros. Cada baía recebeu um tambor que tinha um furo, na altura equivalente a 80 litros de água visando impedir eventuais equívocos no momento de abastecimento. Deste modo, sempre que os mesmos tinham seu volume ultrapassando a referida marca, o excesso escoava automaticamente, por gravidade para uma canaleta preparada para este fim, voltando ao Ribeirão Cerradinho. O mesmo sistema foi adotado para as baias que recebiam água potável.

Em cada tambor foi acoplado um bebedouro automático e as reposição d'água e medida da ingestão foram realizadas diariamente, sempre no mesmo horário, no momento da leitura do consumo das últimas 24 horas. Tal procedimento objetivou reduzir ao mínimo, a influência da temperatura nas águas previamente armazenadas.

2.2 Animais

Foram adquiridos de propriedades pertencentes à região nordeste do Estado de São Paulo, entre aquelas cadastradas pelo CPPAR/UNESP/FCAVJ e possuidoras de rebanhos com elevado padrão sanitário, principalmente sem histórico de cisticercose no rebanho, nos últimos anos, 16 bovinos, machos, fenotipicamente zebuínos (oito Nelores) e taurinos (oito Holandeses), com idade variando entre oito e 16 meses de idade.

2.3 Exames prévios e alimentação

Antes da aquisição, foram conduzidos exames sorológicos (pesquisa de anticorpos contra *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Leptospira* spp e *Brucella* spp) objetivando a obtenção de animais livres destes patógenos.

O início das provas para imunodiagnóstico da cisticercose (Elisa-teste) foi postergado para quando se dispusesse de um teste confiável e específico para esta zoonose. Em caráter provisório, e na falta de uma alternativa mais adequada, adotou-se a de utilizar animais oriundos de criatórios em que a anamnese do rebanho não registrasse a presença notória do problema da cisticercose. Tomou-se, no entanto, a cautela de estocar, sob congelamento, amostras de soro, colhidas quinzenalmente, de cada um dos animais do experimento.

Durante o período do estudo, foi fornecida aos bovinos uma dieta à base de silagem de milho e ração concentrada, oriundas de mesma fonte e administradas em cochos de cimento.

2.4 Delineamento experimental

Os bovinos foram transportados até o CPPAR/FCAV-UNESP e permaneceram preliminarmente, por 10 dias, em um piquete. Após esse período, foram submetidos à pesagem, à colheita de amostras de sangue e à aplicação de uma dose de ivermectina (200 mg /Kg de peso corpóreo).

Após a repetição dos exames sorológicos (dia zero) os animais foram submetidos a nova pesagem e, com base nesta, foram estabelecidos os grupos-tratamentos (Tabela 1), quando passaram a ser mantidos em baias (dois animais por baia) até o final do experimento (105º dia).

2.5 Estudo microbiológico das fontes de água

Durante a realização do experimento, foram colhidas, semanalmente, amostras objetivando a determinação dos níveis de coliformes fecais e totais em ambos os tipos de águas oferecidos aos animais. Para as análises microbiológicas, colimetria (coliformes fecais e coliformes totais) foi empregada a técnica de tubos múltiplos "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA, 1992). Esta metodologia refere-se à determinação de organismos com base em sua termotolerância (HIGASKINO, 1998).

2.6 Exames parasitológicos

Uma semana antes do início do experimento (dia -7) e nos dias 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 e 105 após o início do fornecimento dos dois tipos de águas aos bovinos, foram colhidas amostras de sangue para a obtenção de soros, estocados a -20°C. Nas amostras obtidas foram conduzidas provas de soroprecipitação para diagnóstico de leptospirose, prova sorológica para diagnóstico de brucelose animal, de neosporose e de toxoplasmose.

No que concerne a leptospirose, foram empregados antígenos de *Leptospira*, obtidos de cultura viva em meio de EMJH (Difco) com cinco a sete dias de crescimento, segundo as recomendações de Santa Rosa (1970). A interpretação dos resultados obedeceu aos critérios preconizados por Faine (1982). Para brucelose realizou-se a pesquisa de anticorpos contra *Brucella abortus*. Para tanto, utilizou-se o teste "Rosa Bengala", segundo a técnica rotineiramente empregada no diagnóstico sorológico da brucelose animal (ALTON *et al.*, 1988). Para a realização da prova sorológica para o diagnóstico da neosporose empregou-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) baseada na técnica de Camargo (1964) modificada. Objetivando o diagnóstico da toxoplasmose foram realizados dois tipos de exames, quais sejam, provas sorológicas realizadas a intervalos quinzenais (reação de imunofluorescência indireta – RIFI) como preconizada por Camargo (1964), técnica imunoenzimática indireta (Elisa-teste) segundo Domingues *et al.* (1998) e a bioprova em camundongos, conforme descrito por Costa (1977).

Os exames sorológicos para *Cysticercus bovis* foram realizados no Laboratório de Parasitologia Animal do Departamento de Patologia Básica (SCB) da Universidade Federal do Paraná e, foi empregado o teste ELISA indireto, desenvolvido para pesquisa de anticorpos anti-*Cysticercus bovis* (MINOZZO, 1997). Para a padronização do teste foi utilizado antígeno na concentração de 250 ng/cavidade. Soro e conjugado foram diluídos 100 e 400 vezes respectivamente. O ponto de corte (*cut off*) foi determinado pela média das densidades óticas mais duas vezes o desvio-padrão. Os soros dos animais foram avaliados no dia zero (dia do início do fornecimento dos dois diferentes tipos de águas) e no final do experimento (105º dia).

Para a realização de exames fecais, quinzenalmente foram colhidas amostras de fezes diretamente da ampola retal dos bovinos. Para cada amostra foram realizados exames de fezes, com o auxílio da câmara McMaster, pela técnica de Gordon e Whitlock (1939) e a extração de larvas de helmintos, foi realizada por meio da confecção de coproculturas (técnica de Baerman). A identificação das larvas eventualmente presentes foi feita pelos critérios taxionômicos preconizados por Keith (1953).

Com o intuito de pesquisar agentes patológicos nas águas do córrego Cerradinho, semanalmente, durante o processo de bombeamento de água do referido riacho

para tambores, localizados dentro das baías dos bovinos, por intermédio de uma torneira preparada para este fim, eram colhidas amostras de água para a pesquisa de ovos de helmintos parasitos (uma de água “potável” proveniente da rede que abastece o CPPAR/FCAVJ/UNESP e outra de água poluída, proveniente do córrego Cerradinho). Foram empregadas três diferentes técnicas no processo, quais sejam: a técnica modificada de Bailenger, descrita por Ayres e Mara (1996), a técnica de Barbier *et al.* (1990) e a técnica de Yanko (1987) tal como descritas por Soccol *et al.* (1998).

Após o período experimental (sete quinzenas), os animais foram transportados até o frigorífico Minerva, na cidade de Barretos-SP, para a realização do abate e colheita dos dados referentes às carcaças. No frigorífico, os trabalhos de inspeção foram desenvolvidos por uma equipe de inspetores devidamente treinados para realizar os trabalhos de inspeção “*post-mortem*”, sob a supervisão e responsabilidade de um médico veterinário. Os exames para o diagnóstico da cisticercose bovina seguiram os procedimentos descritos por Fukuda (1996) e obedeceram aos métodos oficiais de rotina de inspeção padronizadas pelo S.I.F. (BRASIL, 1971).

2.7 Análise estatística

Os dados experimentais foram analisados em um delineamento em blocos casualizados com quatro repetições por tratamento, em um esquema fatorial 2x2, para estudar o efeito de raça (zebuíno e taurino) e da água (potável e poluída), pelo procedimento GLM (SAS INSTITUTE, 1989), seguido por comparação de médias pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Para análise dos dados referentes a presença ou ausência de *C. bovis* utilizou-se o teste Exato de Fischer.

3 Resultados e Discussão

Os resultados semanais para as análises microbiológicas das duas fontes de água utilizadas estão expressos na Tabela 2. Observa-se a prevalência de coliformes totais e fecais em todas as amostras analisadas. Porém, enquanto a água “potável” da rede de abastecimento do CPPAR/FCAVJ/UNESP continha teores de bactérias fecais aceitáveis pelos critérios da Resolução Conama-20 de 18 de junho de 1986 (BRASIL, 1986), a água do córrego Cerradinho veiculava germes fecais em teores muito superiores aos limiares permitidos por essa resolução. Esta constatação já era presumida,

Tabela 1 – Distribuição em função da raça e do peso, de 16 bovinos *Bos indicus* e *Bos taurus*, entre dois diferentes tratamentos (Água potável* e Água do córrego Cerradinho) por um período de 105 dias.

Grupo	Bovinos Experimentais			Tipo de Água Fornecida
	Subespécie	Número do Animal	Peso (Kg)	
T2Z	<i>Bos Indicus</i>	93	130,00	Água do Córrego Cerradinho
		96	126,50	
		91	142,00	
		120	182,00	
Total		580,50		
T1Z	<i>Bos Indicus</i>	90	141,00	Água Potável
		95	166,00	
		94	120,00	
		100	128,50	
Total		555,50		
T2T	<i>Bos Taurus</i>	02	119,00	Água do Córrego Cerradinho
		04	109,50	
		05	123,00	
		16	168,00	
Total		519,50		
T1T	<i>Bos Taurus</i>	11	100,50	Água Potável
		12	115,00	
		14	116,00	
		15	117,00	
Total		448,50		

uma vez que, como já salientado anteriormente, o referido córrego é receptor de esgotos domésticos provenientes da cidade de Jaboticabal.

Pelczar (1981) afirmou que germes dotados de potencial patogênico chegam às extensões de água através das excreções intestinais do homem e de outros animais. Assim, a presença de coliformes na água torna-se uma forte evidência de poluição fecal, de origem humana ou animal. Deste modo, se tais germes estão presentes na água, o acesso está aberto, também, para outros agentes patogênicos que podem estar presentes nas fezes.

A Tabela 3 apresenta os resultados das contagens de ovos de helmintos parasitos, isolados a partir de amostras de água, colhidas no córrego Cerradinho durante o período experimental. Nestas, observaram-se altas concentrações de ovos de helmintos parasitos do homem, sobretudo do gênero *Ascaris*; ovos de outros helmintos também foram detectados, porém em quantidades médias bem inferiores às daquele gênero. Detectaram-se, também, os seguintes gêneros: *Trichuris*, *Capillaria*, *Hymenolepis*, *Taenia* além de Strongyloidea. Ovos de outros helmintos também foram detectados, porém em quantidades médias bem inferiores às daquele gênero. Detectaram-se, também, os seguintes gêneros: *Trichuris*, *Capillaria*, *Hymenolepis*, *Taenia* além de Strongyloidea. Ubraev (1980) relatou que após a aplicação de água de esgoto em plantas cultivadas na cidade de Engels, antiga União das Repúblicas Socialistas Soviéticas, com efluentes contendo de 80 a 500 ovos de helmintos parasitos (*Ascaris*, *Enterobius*, *Trichuris*, *Diphyllobothriids* e *T. saginata*) por m³ de água, 57% dos ovos permaneceram viáveis, incluindo as oncosferas de *T. saginata*. No Brasil, Coelho e Campos (1995) detectaram, em lagoas de decantação, ovos de ancilosto-

mídeos, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta* e *Taenia* sp e alertaram para a importância do complexo teníase / cisticercose em saúde pública, pois ovos de *Taenia* sp são infectantes para os hospedeiros susceptíveis (bovinos, suínos e seres humanos) ao serem eliminados nas fezes e constituem perigo iminente de infecção para o homem e animais domésticos.

No presente estudo, a pesquisa de ovos de helmintos parasitos apresentou resultados condizentes com a literatura, os quais revelaram o alto risco, não somente de infecções bacterianas mas, também helmínticas, que o córrego Cerradinho traz às pessoas e aos animais que freqüentam e/ou que se abastecem de suas águas. No que concerne à hipótese da eventual veiculação de ovos ou larvas de Strongyloidea de bovinos pelas águas do córrego Cerradinho, o fato que primeiramente chama atenção refere-se à contagem zero de ovos por grama de fezes, para os 16 bovinos nos primeiros 30 dias do experimento, demonstrando que a primeira aplicação de ivermectina no dia zero propiciou, por mais de quatro semanas, o não aparecimento de ovos ou larvas de nematódeos parasitos nas fezes dos bovinos. Entretanto, o aparecimento de pequenas contagens de ovos de Strongyloidea, em alguns animais, a partir de um mês de duração da pesquisa, indica que, possivelmente, a ivermectina não foi capaz de remover completamente, todos os helmintos presentes nos bovinos (Tabelas 4 e 5). Por outro lado, pôde-se constatar que a carga de parasitos portada pelos bovinos que ingeriram águas do córrego Cerradinho e água "potável" foi semelhante, permitindo inferir que o referido riacho não se revelou como um meio propício para propagação de formas parasitárias dos Strongyloidea helmintos de bovinos.

Tabela 2 – Taxas de coliformes fecais obtidas pelas análises microbiológicas¹ de dois tipos de águas oferecidas aos animais ao longo das sete experimentais.

Semana	Fonte de Água			
	"Água Potável"		"Água Poluída"	
	C.T.*	C.F.**	C.T.	C.F.
1	90	<2	75x10 ⁶	39x10 ⁶
2	4	<2	23x10 ⁷	46x10 ⁵
3	170	11	15x10 ⁷	14x10 ⁵
4	40	<2	23x10 ⁷	75x10 ⁶
5	40	<2	21x10 ⁶	6,4x10 ⁶
6	2	<2	15x10 ⁸	15x10 ⁶
7	10,5	<2	21x10 ⁶	2x10 ⁷
8	50	2	12x10 ⁸	93x10 ⁶
9	<2	<2	75x10 ⁵	39x10 ⁵
10	<2	<2	23x10 ⁷	23x10 ⁷
11	23	23	21x10 ⁷	23x10 ⁶
12	<2	<2	14x10 ⁷	75x10 ⁵
13	<2	<2	23x10 ⁷	64x10 ⁶
14	13	2	15x10 ⁸	12x10 ⁶
15	23	<2	75x10 ⁷	15x10 ⁶

*C.T. = Coliforme total **C.F. = Coliforme fecal

1: Segundo a Resolução Coama n. 20, as águas da classe III podem conter coliformes / 100ml, em 80% ou mais, de um número mínimo de cinco mensais, colhidas em qualquer mês do ano.

Tabela 3 – Número médio* de ovos de helmintos parasitos por litro de água colhida do córrego Cerradinho, ao longo de sete quinzenas experimentais.

Semanas	<i>Ascaris</i> sp.	<i>Trichuris</i> spp.	<i>Capillaria</i> spp.	<i>Hymenolepis</i> sp.	<i>Taenia</i> sp.	Estrongilídeos	Oocistos de Eucoccida
1	480	10	10	60	30	0	+
2	250	10	0	10	0	50	+
3	430	60	40	50	30	0	+
4	340	70	0	0	0	0	+
5	0	0	0	0	0	0	+
6	230	30	0	0	20	10	+
7	160	20	0	10	20	0	+
8	500	560	200	30	70	0	+
9	350	100	0	0	40	0	+
10	170	90	20	30	30	0	+
11	340	0	0	0	0	0	+
12	210	40	40	10	0	0	+
13	80	10	0	0	0	0	+
14	280	70	0	0	0	0	+
15	50	0	0	0	0	0	+
Total	3870	1070	310	200	240	60	+
Média	258,00	71,33	20,67	13,33	16,00	4	+

* = médias correspondentes aos maiores valores encontrados através de três diferentes técnicas de pesquisa de sedimentos: Técnica de Bailenger, Técnica de Barbier *et al.* (1990) e a Técnica de Yanko.

Quanto aos protozoários verificou-se que o córrego Cerradinho veiculava grande quantidade de oocistos de Eucoccida; entretanto, este fato não teve correlação direta com os achados sorológicos para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, como também com as bioprovas para *T. gondii* realizadas em camundongos, em que os resultados foram negativos. No que concerne ainda aos exames sorológicos para *Leptospira* spp e para *Brucella* spp, os achados sorológicos também foram negativos.

Relativamente à cisticercose bovina, após exames de carcaças (Tabela 6), chama a atenção o encontro de um taurino portador de cisticercose entre os oito (12,5%) bovinos (quatro taurinos e quatro zebuínos) que receberam água “potável” da rede de abastecimento do CPPAR/FCAVJ/UNESP, ainda que esta, mediante provas laboratoriais, pudesse ser considerada aceitável pelos critérios da Resolução CONAMA-20 (BRASIL, 1986). Pelo fato desse único cisticercose apresentar-se calcificado e tendo em mente que o consumo de água em questão dera-se por apenas 105 dias, período aparentemente curto demais para que uma primo-infecção por cisticercose pudesse desenvolver-se e curar-se, até a calcificação do cisto (ORYON *et al.*, 1998), parece que a melhor hipótese para explicar esse achado é a de que esse taurino tivesse vindo infectado da fazenda de origem. Tal hipótese não fora ignorada ao projetar-se o experimento, tanto que amostras de soro sanguíneo foram colhidas de cada animal nos dias – 7, zero, 15,

30, 45, 60, 75, 90 e 105, e estocadas sob congelamento, para posteriores provas sorológicas.

No caso específico da cisticercose, tais provas foram postergadas até que se tornasse disponível uma imunoprova que pudesse ser aplicada, o que só veio a suceder meses depois de terminado o prazo de 15 semanas de duração do experimento.

Na literatura consultada, trabalho experimental de grande significado neste sentido foi o de Nadzharovl *et al.* (1985), na antiga URSS, que administraram proglotes a vacas em gestação e demonstraram a transmissão transplacentária de *Cysticercus* a fetos com quatro a cinco meses de gestação, mas não àqueles com menos de dois meses e meio de desenvolvimento embrionário. Pessôa e Martins (1988) opinaram que a duração da infestação cisticercótica em bovinos seria da ordem de um ano, ainda que citassem Froyd e Urquhart, segundo os quais os bovinos, uma vez infectados, podem portar cisticercos vivos para o resto da vida (FROYD, 1969; URQUHART, 1965 *apud* PESSÔA e MARTINS, 1988). Contrariando tal ponto de vista, Freitas (1976) cita trabalhos feitos no Quênia, os quais indicam que bovinos raramente se infectam com cisticercos após quatro meses de idade. Concordando com os achados quenianos, Dorny *et al.* (2000) pesquisaram entre novembro de 1997 e junho de 1998, em 20 abatedouros belgas, a presença de antígenos de *Cysticercus bovis* no soro sanguíneo de 1164 bovinos, empregando o teste ELISA baseado em antígenos monoclonais. Os

autores observaram que 36 amostras (3,09%) apresentavam-se positivas e correlacionadas positivamente à idade do animal. Os pesquisadores constataram também que a rotina de inspeção foi capaz de detectar *Cysticercus bovis* em apenas três carcaças (0,26%), mesma prevalência anual relatada pelo Instituto de Inspeção Veterinário Belga, em 1997.

É óbvio que tais achados experimentais não podem ser aceitos como verdade incontestável, mesmo porque há vasta evidência universal, dentro da qual se insere com destaque o trabalho brasileiro de Pardi *et al.* (1952) que refere o encontro de cisticercos vivos em cerca de 0,19%, de mais de um milhão e oitocentos mil bovinos adultos abatidos em matadouro do Frigorífico Anglo, de Barretos, ao longo de cerca de uma década.

Voltando à análise da Tabela 6, vê-se que foram 12 os cisticercos encontrados no conjunto dos 16 bovinos do experimento, à inspeção de suas carcaças no matadouro do Frigorífico e, chama a atenção, o fato de nove desses (75%) estarem calcificados e apenas três (25%) estarem vivos. Como o tempo de exposição desses animais às águas do córrego Cerradinho foi de apenas 105 dias (três meses e meio) parece estranhável que no total de cinco animais portadores de cisticercose, quatro pudessem, em tão pouco tempo, ter adquirido e se curado da infecção, com morte e calcificação das vesículas cisticercóticas. A aplicação do “teste Exato de Fisher” ao parâmetro “número total de bovinos infectados” e número total de “não infectados”, para os tratamentos T1 e T2, demonstrou diferentes resultados em relação à metodologia (S.I.F. ou Elisa teste) de detecção da enfermidade, assemelhando-se aos resultados obtidos por Chapman *et al.* (1998). Assim, quando comparado o número de portadores de cisticercose à necropsia (S.I.F.) entre bovinos que beberam água potável (1 em 8 ou 12,5%) com o daqueles que beberam água do córrego Cerradinho (4 em 8 ou 50%), o teste de “Exato de Fisher” indicou uma taxa de diagnóstico mais elevada neste último grupo, porém a um nível de segurança matematicamente insatisfatório ($P \leq 0,1410$) ou seja, somente a este nível de segurança (85,90%) poderia fazer-se a inferência de que a diferença nas taxas de infecção dos bovinos fosse atribuível à veiculação de ovos de *Taenia* pelas águas do córrego Cerradinho. Entretanto, há de se salientar que a metodologia empregada pelo S.I.F não objetiva a detecção de todas as larvas presentes na carcaça e, por conseqüência, não garante o diagnóstico de todos os animais positivos. De fato, análises para provas sorológicas (Tabela 7) demonstraram que seis dos dezesseis bovinos apresentaram valores de densidade óptica compatíveis com

infecção por *C. bovis*, mas apenas cinco teriam se infectado com as águas utilizadas para sua dessedentação.

Os exames sorológicos (Tabela 7) revelaram ainda que realmente alguns dos animais já apresentavam, embora em baixos níveis, anticorpos contra *C. bovis*, indicando algum contato com *C. bovis* em sua vida pregressa e que pelo menos um destes (zebuíno número 100) teria sido infectado antes de sua chegada ao CPPAR/FCAVJ/UNESP. Entretanto, quatro animais que apresentavam *Cysticercus* calcificados não foram detectados pelo exame sorológico. De fato Minozzo (1997) salientou que “devido às alterações dos níveis de anticorpos nos bovinos portadores de cisticercos, no decorrer da afecção, especialmente os que possuem infecção leve, a prova de ELISA pode apresentar resultados negativos falsos”, não se mostrando, portanto, “totalmente adequada para o diagnóstico individual, necessitando de novos estudos, especialmente no que tange à capacidade de detectar baixos níveis de anticorpos”. Resultados parecidos foram obtidos também por Emre *et al.* (1997). De qualquer modo, pelos critérios da sorologia adotados, com exceção de um animal (número 100), todos os demais atendiam à condição de não infecção por *C. bovis* antes do início do experimento. Após 105 dias de experimentação, entre aqueles que beberam água da rede que abastece as instalações do CPPAR/FCAVJ/UNESP, sete animais ou 100% dos mesmos, já descartando, portanto, o animal zebuíno positivo, não apresentaram infecção (incluindo nestes, o animal que fora positivo segundo a inspeção do S.I.F.) enquanto, entre os que beberam água do córrego Cerradinho (oito animais ao todo), quatro apresentaram-se infectados, sugerindo que a infecção dos animais realmente deveu-se à veiculação de ovos de *T. saginata* pelas águas do referido córrego, veiculação esta, na realidade já cabalmente demonstrada pelo encontro de ovos desse gênero, mediante exame microscópico de suas águas (Tabela 3).

Os resultados deixam patente a falta de concordância entre as duas provas, pois houve reciprocidade de diagnóstico apenas em um animal (6,25%), resultado insatisfatório mas superior ao obtido (3,7%) por Chapman *et al.* (1998). Frente a tais observações, pode-se inferir que nem a prova de inspeção sanitária da carcaça e nem a prova sorológica foram suficientes para detectar toda a experiência pregressa dos animais no que concerne à infecção cisticercótica. Resta salientar que, dentre os animais com infecção cisticercótica, apenas um apresentou *Cysticercus bovis* vivo.

Tabela 4 – Resultados quinzenais referentes ao número de ovos de Strongyloidea parasitos por grama de fezes, para duplas de bovinos (*Bos indicus* ou *Bos taurus*) submetidos ao regime de confinamento total, durante um período de 105 dias e dessedentados com água "potável" ou poluída.

Subespécie	Baía	Número de Bovino	Tratamento	Número de ovos de nematódeos parasitos por grama de fezes / quinzena								
				0	15	30	45	60	75	90	105	
<i>Bos indicus</i>	08	93	T2Z	0,00	0,00	0,00	0,00	25,00	75,00	25,00	50,00	
		96		0,00	0,00	0,00	50,00	100,00	100,00	50,00	25,00	
	06	91		0,00	0,00	0,00	50,00	100,00	100,00	50,00	25,00	
	120											
		Média			0,00	0,00	0,00	25,00	62,50	87,50	37,50	37,50
	04	90	T1Z	0,00	0,00	0,00	25,00	175,00	125,00	75,00	50,00	
		95		0,00	0,00	0,00	25,00	125,00	100,00	50,00	50,00	
		02		94	0,00	0,00	0,00	25,00	125,00	100,00	50,00	50,00
		100										
		Média			0,00	0,00	0,00	25,00	150,00	112,50	62,50	50,00
<i>Bos taurus</i>	12	02	T2T	0,00	0,00	0,00	0,00	300,00	25,00	175,00	50,00	
		04		0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	75,00	50,00	100,00	
	09	05		0,00	0,00	0,00	0,00	50,00	75,00	50,00	100,00	
	06											
		Média			0,00	0,00	0,00	0,00	175,00	50,00	112,50	75,00
	05	11	T1T	0,00	0,00	0,00	25,00	100,00	125,00	100,00	100,00	
12		0,00		0,00	0,00	50,00	50,00	75,00	100,00	150,00		
03		14		0,00	0,00	0,00	50,00	50,00	75,00	100,00	150,00	
15												
	Média			0,00	0,00	0,00	37,50	75,00	100,00	100,00	125,00	

T2: Bovinos que receberam água do córrego Cerradinho

T1: Bovinos que receberam água "potável"

T: Taurinos (raça Holandesa)

Z: Zebuínos (raça Nelore)

Tabela 5 – Resultados referentes às culturas nematológicas (Strongyloidea e Rhabdiasoidea) de fezes (coproculturas) realizadas mensalmente, ao longo de 105 dias.

Subespécie	Tratamentos	Número de Bovino	Percentagem de Larvas / Gênero de Nematóides / Dias de Experimentação																
			0				30				60				90				
			C	H	O	T	A	S	VL	C	H	O	T	A	S	VL	C		
<i>Bos indicus</i>	T2Z	93	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		96	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T1Z	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	
		95	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Bos taurus</i>	T2T	94	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T1T	04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
		06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T1T	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
		15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

C: *Cooperia* spp. H: *Haemonchus* sp. O: *Oesophagostomum* sp. T: *Trichostrongylus* sp. A: Anclostomatidae S: *Strongyloides* VL: Larvas de vida livre

T2: Bovinos que receberam água do córrego Cerradinho.

T1: Bovinos que receberam água "potável".

T: Taurinos (raça Holandesa).

Z: Zebuínos (raça Nelore).

Tabela 6 – Larvas de *Taenia saginata* (*Cysticercus bovis*) diagnosticadas pelo Serviço de Inspeção Federal (S.I.F.) ao abate de bovinos (*Bos indicus* e *Bos taurus*) submetidos a diferentes fontes de água.

Raça	Número do Bovino	Grupo	Parâmetros relativos a <i>Cysticercus bovis</i>		Número
			Local	Estágio	
Zebuínos	93	T2Z	Musculatura	Calcificado	1
	96		-	-	0
	91		Musculatura (03) + Coração (02)	Calcificados	5
	120	Musculatura	Calcificados	2	
	Total				8
	90	T1Z	-	-	0
	95		-	-	0
	94		-	-	0
	100	-	-	0	
	Total				0
Taurinos	2	T2T	-	-	0
	4		-	-	0
	5		Coração	Vivas	3
	16	-	-	0	
	Total				3
	11	T1T	-	-	0
	12		-	-	0
14	-		-	0	
15	Musculatura	Calcificado	1		
Total				1	

T2: Bovinos recebendo água do córrego Cerradinho

T1: Bovinos recebendo água "potável"

T: Taurinos (raça Holandesa)

Z: Zebuínos (raça Nelore)

Tabela 7 – Detecção de *Cisticercus bovis* por inspeção sanitária da carcaça* e por sorologia (Elisa Teste) em bovinos *Bos indicus* e *Bos taurus* dessedentados com águas "potável" e poluída.

Grupo	Bovinos Experimentais			Tipo de Água Fornecida	Títulos Sorológicos para <i>C. bovis</i>				Presença de <i>C. Bovis</i>
	Subespécie	Número	Peso (Kg)		Início do Experimento		Final do Experimento		
					(D.O.)	Titulação	(D.O.)	Titulação	
T2Z	<i>Bos indicus</i>	93	130,0	Água do Córrego Cerradinho	0,213	NEGATIVO	0,159	NEGATIVO	POSITIVO 2
		96	126,5		0,241	NEGATIVO	0,324	POSITIVO 2	NEGATIVO
		91	142,0		0,242	NEGATIVO	0,206	NEGATIVO	POSITIVO 2
		120	182,0		0,311	NEGATIVO	0,250	NEGATIVO	POSITIVO 2
Total		580,50							
T1Z	<i>Bos indicus</i>	90	144,0	"Água Potável"	0,231	NEGATIVO	0,159	NEGATIVO	NEGATIVO
		95	143,0		0,170	NEGATIVO	0,135	NEGATIVO	NEGATIVO
		94	134,0		0,166	NEGATIVO	0,224	NEGATIVO	NEGATIVO
		100	105,0		0,353	POSITIVO1	0,306	POSITIVO 1	NEGATIVO
Total		526,00							
T2T	<i>Bos taurus</i>	02	105,0	Água do Córrego Cerradinho	0,171	NEGATIVO	0,595	POSITIVO 2	NEGATIVO
		04	106,0		0,316	NEGATIVO	0,301	POSITIVO 2	NEGATIVO
		05	151,0		0,320	NEGATIVO	0,407	POSITIVO 2	POSITIVO 2
		16	132,0		0,162	NEGATIVO	0,434	POSITIVO 2	NEGATIVO
Total		494,00							
T1T	<i>Bos taurus</i>	11	100,5	"Água Potável"	0,201	NEGATIVO	0,217	NEGATIVO	NEGATIVO
		12	115,0		0,210	NEGATIVO	0,300	NEGATIVO	NEGATIVO
		14	116,0		0,235	NEGATIVO	0,186	NEGATIVO	NEGATIVO
		15	117,0		0,147	NEGATIVO	0,125	NEGATIVO	POSITIVO 2
Total		448,50							

POSITIVO 2: Adquiriram infecção por *C. Bovis* após a ingestão das águas do córrego Cerradinho
 NEGATIVO: Não adquiriram infecção por *C. Bovis* após a ingestão das águas do córrego Cerradinho
 POSITIVO 1: Infecção na origem (propriedade)
 *: S.I.F.: Sistema de Inspeção Federal
 D.O.: Densidade ótica

Referências Bibliográficas

- ALTHON, G.G. *et al.* *Techniques for brucellosis laboratory*. Paris: Institut National de la Reserche Agronomique, 1998. 190 p.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 17.ed. Washington, 1992. 619p.
- AYRES, R.M.; MARA, D.D. *Analysis of wastewater for use in agriculture: a laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques*. Geneva: World Health Organization Graphias, 1996. 31p.
- BARBIER, D. *et al.* Parasitic hazard with sewage sludge applied to land. *Appl. Environ. Microbiol.*, Wahington, v.56, n.5, p.1420-1422, 1990.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de inspeção de projetos de origem animal. *Inspeção de carnes: padronização de técnicas, instalações e equipamentos*. I. Bovinos. Brasília. 1971.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 20 de 18 de junho de 1986. Estabelece a classificação das águas, doces, salobas e salinas do Território Nacional. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 30 jul. 1986. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/CONAMA/res/resol86/res2086.htm>.
- CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop.*, São Paulo, v.6, n.3, p.176-178, 1964.
- CHAPMAN, P.S. *et al.* Field evaluation in Botswana of a novel diagnostic test for *Taenia saginata* cysticercosis. *Cattle pract.*, Gloucestershire, .6, n.4, p. 353-355, 1998.
- COELHO, M.W., CAMPOS, D.M.B. Avaliação da eficiência de um sistema de lagoas de estabilização na remoção de ovos de helmintos: proposta para a determinação do percentual de recuperação de ovos de helmintos através do método de Schwartzbrod. *Rev. Patol. Trop.*, Goiania, v.25, n.1, p. 61-72, 1995.
- COSTA, A.J. *et al.* Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.*, Lancaster, v. 63, n.2, p. 212-218, 1977.
- DOMÍNGUEZ, L. M. *et al.* Toxoplosmose canina: ava-liação comparativa de detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pelo ensaio imonuoenzimático indireto (ELISA – teste) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9., 1995, Campo Grande. *Anais...* Campo Grande: CBPV, 1995.
- DORNY, P. *et al.* Sero-epidemiological study of *Taenia saginata* cysticercosis in Belgian cattle. *Vet. Parasitol.*, Lancaster, v.88, n.1-2, p.43-49, 2000.
- EMRE, Z. *et al.* Study on the serodiagnosis of bovine cisticercosis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Turk Veterinerlik ve Hayvancilik Dergisi*, v.21, n. 6, p.471-476, 1997.
- FAINE, S. *Guidelines for the control of leptospirosis*. Genera: World Health Organization, 1982. 171p.
- FREITAS, M.G. *Helminologia veterinária*. Belo Horizonte: Rabello & Brasil, 1976. 395p.
- FUKUDA, R.T. *Avaliação comparativa das técnicas de inspeção do diafragma no diagnóstico da cisticercose bovina em estabelecimentos sob inspeção federal no Estado de São Paulo*. 1996. 135 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new tecnique for counting nematode eggsin sheep faeces. *J. Counc. Ind. Res. Aust.*, v.12, p.50-52, 1939.
- HIGASKINO, C.E.K. Determinação de coliformes fecais

em amostras de lodo de esgoto por fermentação em tubos múltiplos. In: ANDREOLI, C.V., BONNET, B.R. *Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto*. Curitiba: Sanepar, 1998. p.27-35.

KEITH, R.K. The differentiation of the infective larval of some common nematodeparasites of the cattle. *Aust. J. Zool.*, Victoria, v.1, n.2, p.223 –230, 1953.

MINOZZO, J.C. *Teníase / cisticercose teste de elisa (enzyme-linked immunosorbent assay) para imunodiagnóstico da cisticercose bovina*. 1997. 96f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

NADZHAROV, I.G. et al. Intra uterine infection with cysticercosis of calves and the role of this factor in the epidemiology of *Taenia saginata* infection. *Med. Parazit. Parazit. Bolezni.*, Moskva, n.1, p.74-77, 1985.

NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1995. 524 p.

ORYON, A., et al. Clinico pathological studies in cattle experimentally infected with *Taenia saginata* eggs. *J. South Afric. Vet. Assoc.*, Pretoria, v. 69, n.4, f.156-62. 1998.

PARDI, M.C. et al. Cisticercose em bovinos e suínos (Análise estatística de dados colhidos pelo S.I.F. nº 2, do D.I.P.O.A., do Ministério da Agricultura, junto ao frigorífico Anglo de Barretos, Estado de São Paulo. *Rev. Fac. Med.*, v.2, n.8-10, p .375-389, 1952.

PELCZAR, M.J. Microbiologia das águas domésticas e dos esgotos residenciais. In: _____. *Microbiologia*. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981. f.897-925.

PESSÔA, S.B., MARTINS, A.V. *Parasitologia médica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p. 813-50.

SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. *Re. Microbiol.*, São Paulo v. 1, n. 9, p. 77-109, 1970.

SAS INSTITUTE. *User's guide: statistics*. Cary: SAS Institute, 1989.

SOCOL, V.T. et al. Metodologia de análise parasitológica em lodo de esgoto e esgoto. In: ANDREOLI, C.V., BONNET, B.R. *Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto*. Curitiba: Sanepar, 1998. p.27-35.

UBIRAEV, S.P. Helminthological evaluation of underground irrigation with effluent. *Tr. Sarat. Nauchno Issled. Vet. Stn.*, v.14, p.79-84, 1980.