

VÍRUS EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS USADAS PARA ABASTECIMENTO DE COMUNIDADES RURAIS DO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO (SP)

Joseli Maria Piranha¹ & Alberto Pacheco²

Resumo – Considerando a importância do abastecimento para as comunidades humanas, estudou-se os aspectos envolvidos com a disponibilidade dos recursos hídricos e as características de saneamento de comunidades que vivem em meio rural, no que tange à demanda e ao potencial comprometimento das reservas hídricas. Avaliou-se alguns parâmetros de potabilidade das águas subterrâneas, que correspondem ao principal recurso para abastecimento das comunidades rurais, e realizou-se a caracterização das práticas de saneamento no meio rural, visando observar possíveis inter-relações entre os sistemas de captação de água e os de descartes de efluentes e esgotos nestas comunidades. Foram encontrados componentes virais e bactérias em amostras de águas, que indicam a contaminação das águas subterrâneas com microorganismos de origem fecal. Para fins de orientação e aconselhamento da população, elaborou-se uma cartilha com indicações imediatas para melhoria das condições de uso e proteção dos recursos hídricos subterrâneos.

Abstract - Considering the importance of the water supply for human consumption, studies have been undertaken on the hydric sources and the drains and sewage characteristics for rural communities according to the demand and the potential compromising of hydric reserves. Several parameters were evaluated to test whether the underground water, which is the main source for supplying rural communities, is drinkable or not and the parameters mapped out the basic rural drainage and sewage systems with a view to monitoring possible inter-action between the water source and drains and sewage disposal systems in these communities. Viral components and bacteria were found in water samples, which indicate a contamination of underground water sources with faecal micro-organisms. An explanatory leaflet has been elaborated to orientate the population with advice on the correct use of underground water sources and their protection.

¹ Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jd. Nazareth, CEP 15054-000, São José do Rio Preto, SP; joseli@qca.ibilce.unesp.br

² Instituto de Geociências - Universidade de São Paulo, Rua do Lago, 562, Cidade Universitária, CEP 05508-900, São Paulo, SP; apacheco@usp.br

Palavras-Chave - Águas Subterrâneas; Potabilidade; Saneamento; Proteção ; Saúde Ambiental.

INTRODUÇÃO

Tem-se reconhecido a necessidade de mecanismos de proteção da qualidade das águas subterrâneas no desenvolvimento de métodos integrados para gestão dos recursos hídricos. Tal reconhecimento deve-se principalmente à importância destas reservas para o abastecimento de comunidades bem como no contexto de preservação de condições para usos diversos destes recursos.

O abastecimento de água e o saneamento são de suma importância para a saúde das populações, uma vez que aproximadamente 80% de todas as doenças de origem hídrica e mais que um terço das mortes em países em desenvolvimento, são causadas pelo consumo de água contaminada. Excretas humanos e esgotos são importantes fatores de deterioração da qualidade da água, e é sabido que a introdução de tecnologias adaptadas para a construção de sistemas de tratamento de esgotos pode trazer melhorias significativas, em termos de saúde pública e meio ambiente.

No mundo mais de um bilhão de pessoas têm problemas de acesso à água potável e 2,4 bilhões não têm saneamento básico. A falta de acesso à água de boa qualidade e ao saneamento resulta em centenas de milhões de casos de doenças de veiculação hídrica e mais de cinco milhões de mortes a cada ano. Estima-se que entre 10.000 e 20.000 crianças morrem todo dia vítimas de doenças de veiculação hídrica (IETC 2001; UNESCO 2003).

A Organização Mundial de Saúde destaca em seus relatórios que doenças como a diarreia, matam contingentes enormes de crianças nos países com condições precárias de higiene e alimentação. Estas mortes estão inteiramente relacionadas à ingestão de água de qualidade imprópria, a problemas sanitários e de higiene. Enfatiza ainda que o saneamento ambiental promove a higiene, a prevenção de doenças e outras enfermidades relacionadas aos fatores ambientais (disposição de excretas humanos e animais, esgotos, lixo doméstico e outros que contém agentes infecciosos, drenagens, abastecimento de comunidades e moradias).

APRESENTAÇÃO

Tomando por base tais preocupações e considerando a importância do abastecimento para as comunidades humanas, desenvolveu-se um estudo dos recursos hídricos que permitiu avaliar a qualidade das águas de abastecimento e também aspectos relacionados ao saneamento de comunidades do meio rural, no que tange à demanda e ao potencial comprometimento das reservas hídricas.

O município de São José do Rio Preto, situado na região noroeste do Estado de São Paulo, foi escolhido como área para desenvolvimento deste estudo por apresentar nas últimas décadas franca expansão populacional tanto urbana quanto rural (SÃO JOSÉ DO RIO PRETO 2003).

Índices numéricos preocupantes, relacionados à saúde populacional, com registros de epidemias anuais de doenças de veiculação hídrica e outras com ciclo influenciado pela água, destacando o dengue e as diarreias e gastroenterites, mostram a urgência na definição e tomada de medidas para a solução dos problemas de saneamento e abastecimento do município.

Por meio de análises qualitativas de águas, pôde-se observar possíveis inter-relações entre os sistemas de captação de água e os de descartes de efluentes e esgotos nestas comunidades.

MÉTODOS E MATERIAIS

Em trabalhos preliminares de campo foram cadastradas quinze propriedades rurais, consideradas estações de levantamento de dados. Tomou-se por base os fatores: equidistância relativa entre estações, diversidade de atividades rurais, existência de poço para captação de água subterrânea e aceite local para desenvolvimento da pesquisa. As estações de coleta estão demarcadas no mapa de pontos da Figura 01.

Foram realizados trabalhos para coleta de dados relativos à caracterização das condições de saneamento, abastecimento e de saúde das comunidades estudadas e ainda realizou-se quatro campanhas de amostragem de águas para avaliação laboratorial de parâmetros de potabilidade.

Em todas as campanhas de coleta foram analisados parâmetros de potabilidade (BRASIL 2004). Na segunda campanha realizou-se também a amostragem de águas para avaliação da presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp, patógeno reconhecidamente perigoso e associado à contaminações de origem fecal (CURRENT 1988; TZIPORI 1993). Na última campanha coletou-se amostras para detecção de adenovirus, componentes patogênicos relacionados a doenças levantadas no estudo das características de saúde da população local.

As análises de potabilidade foram processadas no Laboratório de Hidrologia e Geologia Ambiental do IBILCE / UNESP, em São José do Rio Preto.

Os parâmetros físico-químicos analisados foram: aspecto, cor aparente, odor, ferro, cloro, cobre, nitrogênio amoniacal, nitrato, nitrito, cloreto, fluoreto e sulfato (processados por espectrofotometria); pH (por pHmetro); sólidos totais dissolvidos, salinidade e condutividade (por condutivímetro conjugado – HACH); alcalinidade de hidróxidos, alcalinidade de carbonatos, alcalinidade de bicarbonatos, dureza de não carbonatos, dureza de carbonatos, dureza total e oxigênio dissolvido (examinados por titulação) e turbidez (por turbidímetro – HACH).

Foram realizadas análises microbiológicas de colimetria, com contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de coliformes totais e fecais. Para determinação do número de UFC's de coliformes totais e fecais utilizou-se técnica de membrana filtrante e meio de cultura para a detecção e quantificação simultânea de coliformes totais e *E. coli*.

As metodologias e os materiais utilizados nas análises laboratoriais seguiram prescrições presentes no *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater* (APHA, 1995).

As análise de *Cryptosporidium* sp e adenovirus foram realizadas em parceria com Laboratórios do Instituto de Ciências Biomédicas II da Universidade de São Paulo. Para tanto foram utilizadas metodologias e técnicas específicas para detecção destes microorganismos em águas subterrâneas (GAMBA *et al.* 1997; VERSEY *et al.* 1993; MEHNERT *et al.* 1997).

No caso específico da análise dos componentes virais foi desenvolvida uma adaptação metodológica, pois não se conhecia referência metodológica específica para detecção destes em águas subterrâneas.

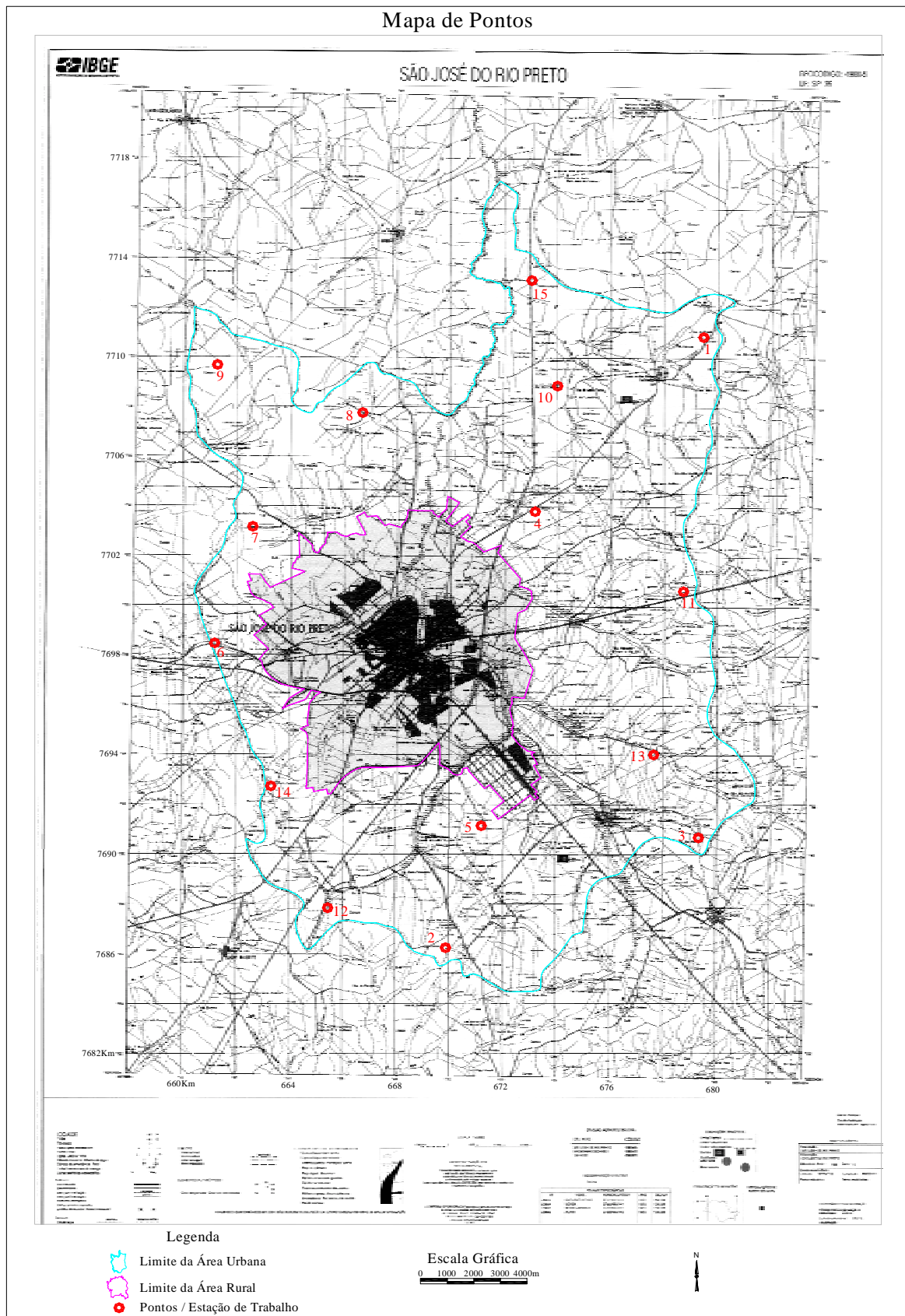


Figura 01- Localização das estações de trabalho na área rural do município.

Detecção de adenovírus

A adaptação metodológica utilizada para *detecção de adenovirus* reside no volume amostrado. Verificou-se que a amostragem e processamento de um volume 100 litros de água foram suficientes para detecção dos componentes virais, seguindo o método de concentração preconizado por MEHNERT *et al.*, (1997) e utilizando membrana eletropositiva Zeta Plus 60S (AMF, Cuno Div, Meridenn, Conn.). Em seguida, as amostras foram acondicionadas em frascos previamente esterilizados, congeladas e transportadas sob refrigeração, para o Laboratório de Vírus Entéricos Humanos e Animais da Universidade de São Paulo, onde foram reconcentradas por ultracentrifugação $100.000 \times g$ por 2 horas a 4°C , perfazendo uma concentração de 35.000 vezes. As amostras foram então submetidas ao tratamento com Vertrel XF (Du Pont), homogeneizadas em agitador mecânico por 5 minutos e centrifugadas a $12.000 \times g$ por 10 minutos. O sobrenadante foi tratado com antibióticos e estocado a -20°C até o momento do uso (QUEIROZ *et al.*, 2001).

No preparo da cultura celular as células da linhagem estabelecida de carcinoma de orofaringe humano, HEp-2 foram cultivadas em meio Eagle mínimo essencial (MME), acrescido de 10% de soro fetal bovino (SFB; Cultilab, Campinas Brasil) e antibióticos (penicilina G 1.000 U/mL e estreptomicina 1.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Para o subcultivo, o meio de crescimento foi decantado e a monocamada celular lavada com solução de tripsina (1:250 Difco) a 0,25% acrescida de EDTA 0,02%. Em seguida as células foram desprendidas com mais 5 mL da mesma solução de tripsina e foram ressuspensas em 20 mL de meio Eagle MME com 10% de SFB. As suspensões foram transferidas para novas garrafas e incubadas a 37°C .

Visando o preparo de grandes volumes de suspensão do adenovírus, as células de uma garrafa de 75 cm^2 foram ressuspensas em 10 mL de meio Eagle MME, acrescido de 2% de soro fetal bovino e transferido para uma garrafa do tipo Roux. Em seguida, o volume foi completado para 100 mL e a cultura mantida a 37°C .

Preparo da suspensão de adenovírus padrão: O Adenovírus humano tipo 5 (HAdV-5), cultivado em células da linhagem estabelecida de carcinoma de orofaringe humano, HEp-2, foi utilizado como vírus padrão em todos os ensaios. A linhagem celular HEp-2, previamente cultivada em garrafas Roux (100 mL), conforme descrito no item acima, foram inoculadas com um volume de 10 mL da suspensão do adenovírus humano tipo 5 (HAdV-5). Em seguida, as culturas foram incubadas por uma hora a 37°C para adsorção viral. Após este período, o volume foi completado com meio Eagle MME a 2% de SFB e as células novamente incubadas a 37°C . Após o aparecimento de efeito citopático em aproximadamente 75% das células, as culturas foram congeladas a -20° até o momento de uso. Os vírus foram liberados do interior das células infectadas através de três ciclos de congelamento e descongelamento a -20°C . A suspensão viral foi

concentrada por ultracentrifugação a $100.000 \times g$ durante duas horas a 4°C e, em seguida tratada com Vertrel XF (QUEIROZ *et al.*, 2001).

Extração dos Adenovírus presentes nas amostras de água subterrâneas: Na extração do DNA das partículas de adenovírus, o DNA viral foi extraído utilizando o *kit* Trizol[®] (Gibco/BRL/ Life Technologies) conforme instruções do fabricante (Figura 02).

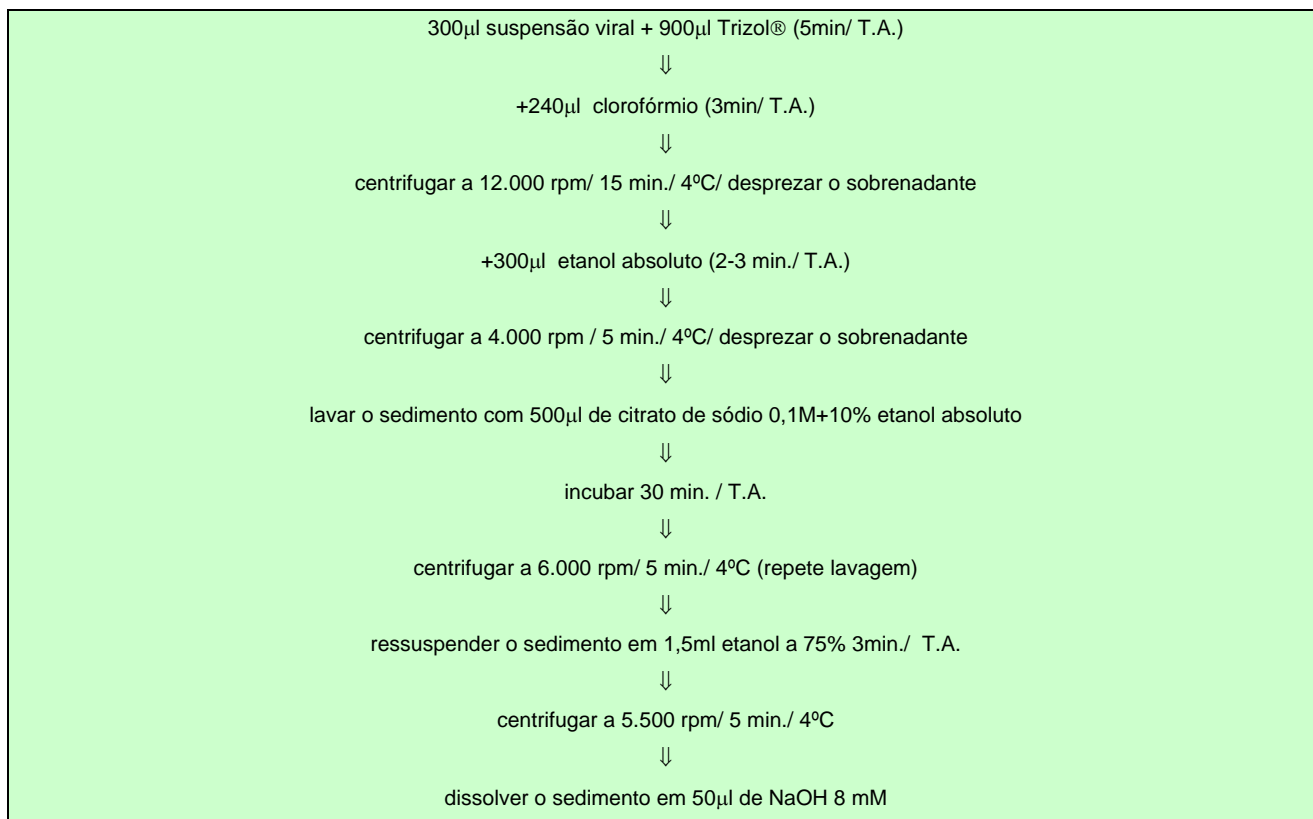


Figura 02- Metodologia de extração do DNA de adenovírus.

Primers: Para a detecção dos adenovírus através da reação de PCR foi utilizado o par de *primers* hexAA1885 e hexAA1913, visando a amplificação total do gene da proteína *hexon*, comum a todos os adenovírus (ALLARD *et al.*, 1990). O fragmento amplificado corresponde a uma seqüência de 301 pares de base. Um segundo par de *primers*, nehexAA1893 e nehexAA1905 também desenhado por ALLARD *et al.* (1990) foi utilizado na reação de *nested-PCR*, para amplificação de um fragmento de 143 pares de bases.

Reação em cadeia da polimerase (PCR): A reação de PCR foi realizada segundo os parâmetros preconizados por ALLARD *et al.*, (1990), com modificações. A amplificação das seqüências nucleotídicas do DNA viral ocorreu em um meio contendo 102 pmoles e 100 pmoles dos *primers* nehexAA1893 e nehexAA1905, respectivamente, 1,5mM de MgCl_2 , 1x PCR *Buffer*, 200µM de deoxinucleotídeos trifosfatos (dNTPs), 2,5U de DNA polimerase Tth (Biotools) e 7 µL de DNA viral. Em todas as reações, utilizou-se água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC) 0,01%

como controle negativo e DNA de HAdV-5 padrão como controle positivo. A etapa da desnaturação inicial das fitas de DNA foi realizada a 94°C/1min., seguida de 40 ciclos de desnaturação a 94°C/1min., anelamento a 57,2°C/1 min e extensão a 72°C/45 seg. A extensão final ocorreu a 72°C/5min. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, posteriormente corados com solução de brometo de etídio (5µg/ml). A presença de bandas foi evidenciada após exposição à luz UV. As amostras que não apresentaram produtos na primeira amplificação, foram submetidas a uma reação de *nested-PCR*.

Reação de *nested-PCR*: A reação de *nested-PCR* foi realizada conforme descrito acima, entretanto, foram utilizados os *primers*, nehexAA1893 e nehexAA1905 nas concentrações de 80 e 100 pmoles respectivamente.

RESULTADOS

As análises apontam resultados alarmantes que podem ser identificados na tabela 01. Na tabela estão destacados os componentes biológicos (coliformes e adenovírus) e também é apresentada uma classificação das águas no que se refere à potabilidade segundo parâmetros físico-químicos e bacteriológicos (Portaria 518, de 25 de Março de 2004 – BRASIL 2004).

Tabela 01- Classificação das águas e resultados analíticos. Legenda: FQ = exames de parâmetros físico-químicos; Bac = exames de parâmetros bacteriológicos (colimetria); NPOT = não potável segundo Portaria 518; POT = potável segundo Portaria 518 (BRASIL 2004).

PONTOS	1ª COLETA		2ª COLETA		3ª COLETA		4ª COLETA		ADENOVÍRUS
	FQ	BAC	FQ	BAC	FQ	BAC	FQ	BAC	+ = detectado
	Col. Totais	Col. Fecais	Col. Totais	Col. Fecais	Col. Totais	Col. Fecais	Col. Totais	Col. Fecais	Nd = não detectado
1	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	+
	05	0	09	0	39	01	129	10	
2	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	Nd
	08	0	11	0	42	0	>1000	0	
3	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	+
	09	0	26	0	800	25	>1000	70	
4	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	+
	07	0	173	0	36	0	02	0	
5	POT	POT	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	Nd
	0	0	30	0	5	0	30	0	
6	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	Nd
	190	14	400	08	320	08	>1000	340	
7	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	NPOT	NPOT	Nd
	>1000	02	102	0	64	0	384	0	
8	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	+
	319	12	>1000	01	>1000	02	430	0	
9	POT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	NPOT	NPOT	+
	220	08	>1000	0	08	0	10	0	
10	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	NPOT	NPOT	Nd
	>1000	>1000	153	0	223	0	>1000	0	
11	NPOT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	---	---	+
	88	0	153	0	09	03	---	---	
12	POT	NPOT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	---	---	+
	128	01	42	0	09	0	---	---	
13	POT	POT	POT	NPOT	POT	POT	POT	POT	+
	0	0	>1000	0	0	0	0	0	
14	POT	POT	POT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	Nd
	0	0	>1000	0	500	0	17	0	
15	POT	POT	NPOT	NPOT	POT	NPOT	POT	NPOT	Nd
	0	0	155	0	189	0	>1000	0	

A reação de PCR para detecção de adenovírus, aplicada nas amostras de água dos quinze poços estudados, permitiu verificar a presença destes em 53,3% das amostras.

A Figura 3 apresenta alguns dos resultados obtidos, onde é possível a visualização de produtos com aproximadamente 300 pares de base, indicando, assim, a presença de adenovírus.

Entretanto, em algumas amostras foram observadas bandas inespecíficas e rastro, o que é comum em amostras ambientais.

Visando confirmar os resultados da primeira amplificação gênica, as amostras foram submetidas a uma segunda amplificação (reação de *nested-PCR*).

Os resultados obtidos na reação de *nested-PCR* são apresentados na Figura 4. A observação de um fragmento de 143 pares de base demonstra a presença de adenovírus nas amostras examinadas.

Não obstante a proposta de investigação tenha sido somente para detecção de adenovírus, utilizaram-se algumas das amostras para verificar a presença do vírus da hepatite e constatou-se que nas amostras 01, 04 e 15 os mesmos foram detectados.

Os exames para detecção de *Cryptosporidium* sp resultaram todos negativos.

Discussão dos resultados

A avaliação dos resultados permite considerar que:

- Todas as estações de amostragem apresentaram, em pelo menos uma campanha de amostragem, resultados que impedem classificar as águas subterrâneas examinadas como potável. Ora os valores apontam o comprometimento de parâmetros físico-químicos, ora bacteriológicos e muitas vezes em ambos.

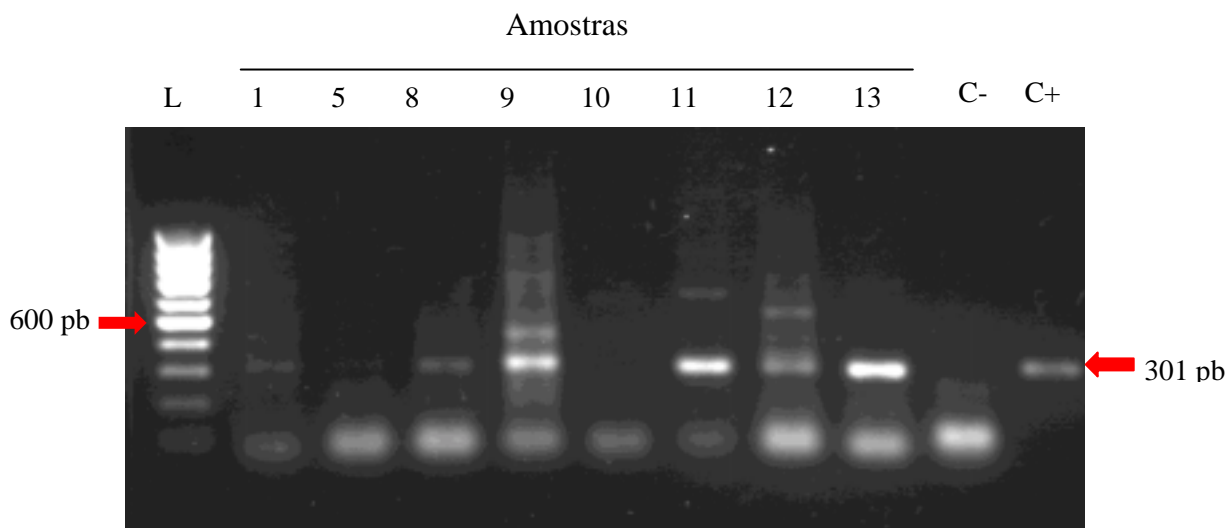


Figura 3- Resultados obtidos após aplicação da reação de PCR para detecção de adenovírus em amostras de água de poços, colhidas na região rural de São José do Rio Preto. Marcador: DNA *ladder* de 100pb (L), controle negativo (C-) e controle positivo (C+) da reação. Gel de agarose a 1,5 % corado com solução de brometo de etídio.

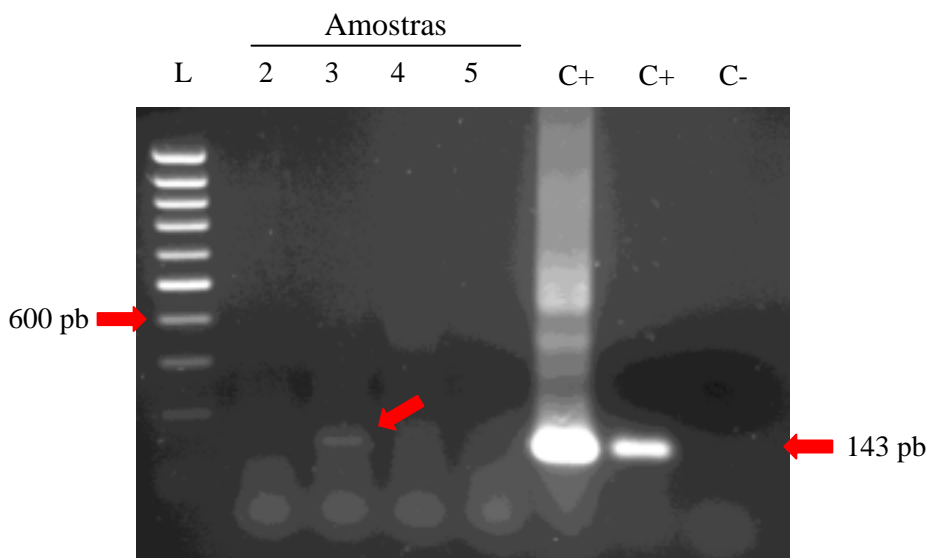


Figura 4- Resultados obtidos após aplicação da reação de *nested*-PCR, para detecção de adenovírus em amostras de água de poços, colhidas na região rural de São José do Rio Preto. Marcador: DNA *ladder* de 100pb (L), controle negativo (C-) e controle positivo (C+) da reação. Gel de agarose a 1,5 % corado com solução de brometo de etídio.

- Os parâmetros físico-químicos mais frequentemente em desacordo com os limites preconizados pela legislação competente são: turbidez, cor, ph, TDS, nitratos e cloretos.
- A presença de coliformes totais foi verificada em 89,6% das amostras analisadas.
- A presença de coliformes fecais foi verificada em 27,5% das amostras.
- Em 53,3% das amostras foram detectados adenovirus.
- As amostras 02 e 03 apresentaram turbidez acima do limite aceito para potabilidade e sabe-se que a elevada turbidez pode impedir a detecção de adenovirus, podendo assim ser responsável pela não detecção dos mesmos na amostra 02.
- Em 20% das amostras foi verificada a presença do vírus da hepatite.
- As águas amostradas na estação 13 foram as únicas que apresentaram condições melhores de potabilidade, tendo sido classificadas como não potáveis apenas no exame bacteriológico da segunda coleta. Contudo, o exame para detecção de adenovirus resultou positivo, embora na mesma amostra não tenham sido encontrados os coliformes.
- Na última campanha de coletas não puderam ser colhidas amostras nos poços das estações 11 e 12 em virtude de problemas operacionais no poço.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A precariedade sanitária local contribui fortemente para o comprometimento da qualidade da água, conforme resultados analíticos. Os esgotos domésticos, em parte ou totalmente, desprovidos

de canalização, escoam *in natura*, superficialmente no solo, espalhando contaminantes diversos e podendo atingir o poço em alguns casos (Estações 06 e 08).

Os poços constituem fontes de contaminação das águas subterrâneas, pois em sua totalidade não apresentam elementos de proteção sanitária (ABNT 1990). Não apresentam dados construtivos e na sua totalidade foram perfurados sem acompanhamento técnico. Não se tem informação sobre revestimentos, filtros e imprecisa é a referência de profundidade dos mesmos.

Apesar destes fatores, a proximidade entre fossas e poços aparentemente é o fator mais indicativo da origem dos microorganismos encontrados nas águas. Verificou-se em todas as estações a presença de diversas fossas (ativas e desativadas), sendo que, nenhuma das fossas cadastradas, foi construída segundo as normas técnicas para construção de fossas sépticas (ABNT 1982).

Contudo, não se pode precisar neste estudo se os vírus teriam sido veiculados através do solo (por infiltração) ou se teriam atingido a cabeça do poço, via escoamento superficial de águas contaminadas ou ainda, diretamente por excretas dispostos nas proximidades deste (Estações 02, 04 e 12). Seria necessária uma investigação mais acurada dos vírus para dirimir tais dúvidas e evidenciar a origem destes importantes contaminantes nas águas dos poços. Outro aspecto interessante é avaliar a percolação dos vírus no solo local, pois, segundo MATTOS (2001), estes podem ser rastreados no perfil de solo nas áreas de recarga de aquíferos como o do Grupo Bauru, onde estão os poços estudados.

A detecção de adenovirus em 53,3% das amostras evidencia a contaminação das águas subterrâneas por material de origem fecal.

A metodologia adotada para a detecção de adenovirus mostrou-se eficiente denotando que a quantidade de vírus nas águas é elevada. Isto é evidenciado, embora não tenham sido quantificados, pois a detecção dos vírus pode se dar já numa primeira amplificação. Uma das amostras (Figura 02) foi positiva após re-amplificação por nested PCR.

A ausência de adenovirus pode dever-se além da inexistência destes na água, a fatores analíticos tais como pequeno volume de água analisado (foram filtrados apenas 100 litros em cada poço). DE SERRES *et al.* (1999) pesquisaram a presença de vírus da hepatite A em volumes de 1.600 litros de água de poço. Neste estudo, um volume maior não pôde ser analisado por limitações técnicas e de infra-estrutura no local da coleta.

A presença de inibidores, tais como íons metálicos, comuns em amostras ambientais, podem reduzir a especificidade dos *primers* da reação de PCR, resultando em amplificações inespecíficas. Contudo, o método de concentração e tratamento das amostras que vem sendo realizado em todos os estudos mostrou ser eficiente na remoção de substâncias inibidoras da reação de PCR (QUEIROZ *et al.*, 2001).

A presença de bandas inespecíficas e rastro ou fragmentos inespecíficos são frequentemente encontrados em amostras ambientais. A provável causa da presença destas bandas, é o anelamento inespecífico dos *primers* em algumas regiões do gene ou outros DNAs presentes nas amostras, consequência do aumento de fragmentos de DNA decorrentes da amplificação.

A qualidade da água subterrânea não é apropriada para o consumo humano, conforme estabelece legislação competente.

A população deve ser informada de medidas para correção das práticas de saneamento, captação e uso da água e ainda sobre medidas para desinfecção dos poços e/ou da água para consumo humano e animal. Para tanto foi desenvolvido o material denominado “Manual de orientações básicas sobre uso e descarte de águas e outros resíduos” para distribuição em todas as estações de trabalhos (propriedades rurais estudadas).

Pode-se verificar que os relatos de viroses e problemas dermatológicos na população entrevistada estão relacionados à qualidade das águas, pois nas estações em que foram relatados pode-se detectar a presença dos indicadores adenovirus.

Para elucidar a origem dos contaminantes biológicos, especialmente os virais e então discriminar se a fossa é o principal elemento fonte dos mesmos, deve-se estudar, em caráter de monitoramento, a presença dos vírus (enterovirus e outros) e ainda buscar avaliar se estes são de origem animal ou humana. Sugere-se ainda que para verificar se a contaminação dos poços está relacionada às fossas, sejam feitos estudos de isótopos de Nitrogênio, que permitem distinguir entre fontes orgânicas e inorgânicas (usadas em grande escala no meio rural).

Cabe destacar que a legislação vigente (BRASIL 2004) indica a inclusão de pesquisa de organismos patógenos (enterovírus e *Cryptosporidium* sp) em caráter de complementação das rotinas analíticas. Contudo, neste estudo verificou-se que especialmente os vírus já podem ser encontrados em um grande número de amostras de águas subterrâneas e que estão associados a relatos de problemas de saúde da comunidade usuária destas águas. Considera-se, portanto, necessária a avaliação rotineira destes patógenos, para tomada de medidas fundamentais à saúde da população, ao controle destas ocorrências e ainda para a mitigação do respectivo comprometimento das reservas de águas subterrâneas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] APHA-AWWA-WEF - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 19th ed. Washington: American Public Health Association, 1995.

- [2] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). *Construção e Instalação de Fossas Sépticas e Disposição de Efluentes* (NBR 7.229). 37 p. Rio de Janeiro, Brasil 1982.
- [3] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 1290: *Construção de poço para captação de água subterrânea*. Rio de Janeiro, 1990.
- [4] BRASIL, Portaria nº 518/MS, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 26 de março de 2004, Brasília.
- [5] CURRENT, W.L..*Cryptosporidium: its biology and potential for environmental transmission*.CRC Critical Reviews Environmental Control. 17: 21-51. 1987. .in:ROSE, J. B.; *Ocurrence and Control of Cryptosporidium in Drinking Water*. J. American Water Works Association; 80: 53-58, 1988.
- [6] De SERRES, G.; CROMEANS, T.L.; LEVESQUE, B.; BRASSARD, N.; BARTHE, C.; DIONNE, M.; PRUD'HOMME, H.; PARADIS, D.; SHAPIRO, C. N; NAINAN, O. V.; GRIFFIN, D.W.; GIBSON III, C. J.; LIPP, E. K.; RILEY, K.; PAUL III, J. H.; ROSE, J. B. Detection of viral pathogens by reverse transcriptase PCR and of microbial indicators by standard methods in the canals of the Florida Keys. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 65, p. 4118-25, 1999.
- [7] GAMBA, R. C.; CIAPINA, E., M., P.; BATELLO, E. R.; ESPINDOLA, R, S.; SILVA, A.L.B.; PACHECO, A.; PELLIZARI, V. H. *Deteção de oocistos de Cryptosporidium em águas subterrâneas utilizadas para consumo no bairro Recanto Mônica, Itaquaquecetuba, SP*. V Congr. Geol. Sudeste. Penedo, Itatiaia, RJ, 1997.
- [8] IETC – INTERNATIONAL ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY CENTRE. Planejamento e gerenciamento de lagos e reservatórios: uma abordagem integrada ao problema da eutrofização. Tradução de Dino Vannucci. Responsabilidade pela edição em português: J. G. Tundisi. 2001. Vol 11. PNUMA, ANA, IIE, PROÁGUA, UNESCO, BANCO MUNDIAL, 385 p. (Série de Publicações Técnicas). In: TUNDISI, J. G. *Água no século XXI enfrentando a escassez*. São Carlos: RiMa Editora – Instituto Internacional de Ecologia, 2003. 247 p.
- [9] MATOS, B.A. *Avaliação da ocorrência e do transporte de microorganismos no lençol freático no cemitério de Vila Nova Cachoeirinha, Município de São Paulo*. 2001. 172f. Tese (Doutorado em Geociências) - Instituto de Geociências – USP - São Paulo.
- [10] QUEIROZ, A.P.S.; SANTOS, F.M.; SASSAROLI, A.; HÁRSI, C.M.; MONEZI, T.A.; MEHNERT, D.U. Electropositive filter membrane as an alternative for the elimination of PCR inhibitors from sewage and water samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67:4614-4618, 2001.

- [11] SÃO JOSÉ DO RIO PRETO, PREFEITURA MUNICIPAL, *Conjuntura Econômica de São José do Rio Preto*. 18. ed. São José do Rio Preto: EMPRO. 2003. 90 p.
- [12] TZIPORI, S. *Cryptosporidiosis in animals and humans*. Microbiol. Rev. 47, 517 - 521p. 1993.
- [13] VERSEY G. SLADE, J.S. BYRNE, M.; SHEPHERD, K.; FRICKER, C.R. *A new method for the concentration of Cryptosporidium oocysts from water*. Journal of Applied Bacteriology, 75. 82-86, 1993.
- [14] UNESCO. Compartilhar a água e definir o interesse comum. *In: Água para todos: água para a vida*. Edições UNESCO, 2003. p.25-26. *In: TUNDISI, J. G. Água no século XXI enfrentando a escassez*. São Carlos: RiMa Editora – Instituto Internacional de Ecologia, 2003. 247 p.