

Protozoários patogênicos (*Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp.) em piscinas no Município de Campinas, SP: padronização de metodologia e detecção.

Carolina Ortiz¹, Regina M. B. Franco¹, Diego Averaldo Guiguet Leal², Vagner R. S. Fiuza¹.

¹Instituto de Biologia, Unicamp, SP. Laboratório de Protozoologia, Depto. de Biologia Animal, E-mail: mfranco@unicamp.br ²Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Depto. de Patologia Básica. Curitiba, PR. E-mail: diego.leal@ufpr.br

Toxoplasma gondii, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foram incriminados como agentes causadores de surtos de veiculação hídrica nos últimos 30 anos. Esses protozoários são transmitidos pela via fecal-oral ou ingestão de alimentos ou água contaminados. No Brasil, é crescente o número de surtos de *T. gondii* gerando a necessidade de padronização de uma metodologia que permita sua detecção em diferentes tipos de amostras de água. O objetivo principal dessa pesquisa foi padronizar uma metodologia de detecção de oocistos de *T. gondii* mediante Filtração em Membrana (FM), seguida de PCR, aplicável a amostras de água. Foram colhidas 21 amostras de água de piscinas públicas do Município de Campinas, sendo 15 delas da retro-lavagem dos filtros e 6 amostras diretamente da piscina. As diversas amostras foram filtradas em membranas de ésteres mistos de celulose (47 mm; 3µm de porosidade nominal). Após eluição e centrifugo-concentração (1500 x g; 15 min.), procedeu-se à purificação por separação imunomagnética (IMS) utilizando-se o kit Dynal®, visando também a detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia*, mediante reação de imunofluorescência direta (kit Cellabs®). Para a detecção de oocistos de *T. gondii*, a partir do sobrenadante obtido e descartado na IMS, realizou-se flutuação em solução de sacarose (gr.sp. de 1,2 g/mL) sendo o material flutuado filtrado em uma membrana de 22 mm, em sistema de MicroFunil (Millipore®), a qual foi examinada ao microscópio. Quando detectadas formas similares aos oocistos de *T. gondii*, a membrana de 22 mm era lavada com solução de eluição (Tween 80 0,1%); o líquido resultante foi empregado para realizar a análise molecular e confirmação da presença de *T. gondii*, utilizando o fragmento do Elemento de Repetição de 529 pb. *T. gondii* foi detectado em 1 amostra (4,7%) mediante FM e PCR, *Cryptosporidium* spp. em 2 piscinas (9,5%) e *Giardia* spp. em 3 piscinas (14,2%), por visualização. Os resultados obtidos representam uma importante contribuição, pois foi implementada a metodologia de detecção de oocistos de *T. gondii* em amostra de água, concomitante à detecção de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*, e são relevantes em Saúde Pública, pois foi detectada a presença de três protozoários patogênicos nas águas das piscinas, representando um risco para a saúde dos usuários destes locais. A metodologia padronizada propiciou a detecção de oocistos de *T. gondii* nas amostras de água.

Palavras chave: Piscinas, protozoários patogênicos, saúde pública.