UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

BRISA MARIA FREGONESI

**Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de
veiculação hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase
para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.**

RIBEIRÃO PRETO

2013

BRISA MARIA FREGONESI

Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de veiculação
hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase para
Giardia spp. e *Cryptosporidium* spp.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de
Pós-Graduação Enfermagem em Saúde Pública.

Linha de pesquisa: Saúde Ambiental

Orientador: Susana Inés Segura Muñoz

RIBEIRÃO PRETO

2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Fregonesi, Brisa Maria

Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Ribeirão Preto, 2013.

136 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem em Saúde Pública.

Orientador: Susana Inés Segura Muñoz

1. Crianças. 2. HIV/aids. 3.Parasitas emergentes. 4.Parasitas reemergentes.

FREGONSEI, B. M. Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação Enfermagem em Saúde Pública.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Aos meus queridos pais, **Janete e Luiz Carlos**, que por muitas vezes abriram mão de seus sonhos para me proporcionar o melhor. Pela confiança em mim depositada e pelo amor incondicional partilhado.*

Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que me proporcionou mais esta oportunidade de crescimento pessoal e profissional. Por sempre estar no comando do meu caminho, me guiando, me protegendo e me iluminando. Pelas inúmeras providências e maravilhas que tem feito em minha vida!

À minha querida orientadora Profa. Dra. Susana Inés Segura-Muñoz, pela confiança em minha capacidade, pela excelente orientação, por sua incansável paciência e inestimável competência. Agradeço também por me proporcionar um dos bens mais valiosos: o conhecimento. Obrigada por tudo! “Feliz daquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina” (Cora Coralina).

À minha família. Aos meus pais Janete e Luiz Carlos, e aos meus irmãos, André Felipe e Marcus Tiago, pela convivência diária, paciência, carinho e amor. Fê, não poderia me esquecer das inúmeras vezes que me carregou por toda cidade de Ribeirão Preto para buscar amostras comigo. Muito obrigada!

Ao meu namorado e amigo Danilo Padula por sempre acreditar no que há de melhor em mim, por me ensinar a amar e ser amada e por toda paciência comigo durante a realização deste projeto. “Meu riso é tão feliz contigo, o meu melhor amigo é o meu amor”...

À Dra. Maria Célia Cervi, por ter possibilitado a realização deste projeto. Pelas considerações de extrema valia, pela paciência, disponibilidade e ajuda.

À Profa. Dra. Ana Paula Moraes Fernandes, pelas considerações, sugestões e grande ajuda em várias etapas da realização deste projeto.

À Profa. Dra. Aline Monroe, que muito me auxiliou na construção e validação do questionário aplicado no presente estudo.

Aos meus amigos do LEPA, Carol, Meire, Cássio, Renato, Rudison, André e Marafina. Obrigada pela amizade, descontração, companheirismo e por fazerem com que o local de trabalho se tornasse um ambiente agradável e feliz. Meire e Carol, meus agradecimentos especiais pelas inúmeras caronas.

À Karina Ap. de Abreu Tonani e à Fabiana Cristina Julião que sempre foram prestativas nos momentos em que precisei, auxiliando na construção e validação do questionário bem como no treinamento das técnicas analíticas.

À Ana Paula Mariano pela ajuda no treinamento das técnicas analíticas.

À Adriana Veneziani Morales Morimoto e Paula Morillas de Holanda, da equipe médica da UETDI do HCFMRP-USP, que muito me ajudaram durante a realização deste projeto.

Aos funcionários da UETDI do HCFMRP-USP, Francisco e Adriano.

Aos especialistas, “anônimos”, que contribuíram para a validação do questionário.

Aos “responsáveis legal e às crianças” que consentiram e assentiram a participação no presente estudo, permitindo que ele fosse realizado.

Aos meus verdadeiros amigos, àqueles que nem preciso citar nomes. Obrigada pela amizade, risadas, conversas, desabafos e companheirismo. “Sempre ali pra estender a mão, maior valor não há, é feito irmão”...

À UETDI do HCFMRP-USP pela oportunidade de realização do projeto.

À CAPES pela bolsa de mestrado!

À FERP, pela oportunidade!

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste projeto, muito obrigada!

Meus sinceros agradecimentos!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes.”

Marthin Luther King

RESUMO

FREGONESI, B. M. **Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.** Dissertação (Mestrado). 2013. 137f. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

As doenças de veiculação hídrica são causadas, principalmente, por micro-organismos patogênicos de origem entérica. A partir da década de 1980, as enfermidades causadas por protozoários parasitas emergiram e reemergiram e se tornaram um problema de saúde pública com relevância na atualidade, especialmente para grupos populacionais mais vulneráveis, como pessoas que vivem com HIV/aids. Este trabalho teve por objetivo avaliar a prevalência de parasitas emergentes e reemergentes em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP e os condicionantes socioambientais envolvidos. Foram coletadas 47 amostras de fezes de 17 crianças de quatro a 13 anos que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, no período de março a setembro de 2013. Do total, 52,9% das crianças eram do sexo feminino e 47,1% do sexo masculino, sendo que 52,9% eram pardas, 35,3% brancas e 11,8% negras. A análise de coccídeos intestinais oportunistas, como *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp. foi realizada pelo método de Ziehl Nielsen Modificado, enquanto que para a pesquisa de cistos de *Giardia* spp. e outros parasitas foi utilizado o método de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus®. As presenças dos parasitas *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. foram confirmadas por meio de ensaios imunoenzimáticos para detecção de antígenos (métodos de Elisa). Foi ainda aplicado um questionário referente às questões socioambientais, hábitos comportamentais e hábitos de higiene pessoal e alimentar adotados pelas crianças participantes do estudo e algumas informações adicionais foram coletadas dos prontuários. Os resultados obtidos revelaram uma alta frequência de parasitas em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP (76,5%), sendo representados por agentes patogênicos: *Giardia* spp. (35,3%), *Cryptosporidium* spp. (23,5%), *Cyclospora* spp. (5,9%); e agente comensal: *Entamoeba coli* (47,1%). Apesar de se tratar de protozoários de veiculação hídrica, considera-se que a água utilizada pelas crianças não seja a principal via de transmissão desses parasitas, tendo em vista as evidências que existem da boa qualidade da água que abastece a região, procedente do Aquífero Guarani. Dessa forma, considera-se que as características socioambientais, os hábitos de higiene pessoal e alimentar adotados pelas crianças bem como o contato com outras pessoas e/ou animais podem ter contribuído para o quadro de enteroparasitoses. A alta prevalência de parasitas encontrada no presente estudo nos remete a grandes preocupações em termos de saúde pública, uma vez que, o quadro clínico para *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. pode evoluir para uma morbidade grave quando há uma supressão do sistema imunológico do indivíduo. Dessa forma, conclui-se que alguns aspectos são imprescindíveis para uma melhoria da qualidade de vida das crianças que vivem com HIV/aids, dentre os que se destacam: o diagnóstico precoce para enteroparasitas, a implementação da análise coprológica de protozoários emergentes e reemergentes na rotina da atenção desses pacientes, o uso correto da terapia antirretroviral, bem como o monitoramento das características imunológicas.

Palavras Chave: Crianças. HIV/aids. Parasitas emergentes. Parasitas reemergentes.

ABSTRACT

FREGONSEI, B. M. **Prevalence of emerging and reemerging parasites waterborne in children living with HIV/aids: focus on *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp.** 2013. 137f. Dissertation (Master's Degree) – College of Nursing of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

The waterborne diseases are caused mainly by pathogenic microorganisms enteric origin. From the 1980s, the diseases caused by protozoan parasites emerged and re-emerged and have become a public health problem of relevance today, especially for the most vulnerable population groups such as people living with HIV/aids. This study objetived to assess the prevalence of emerging and re-emerging parasites in children living with HIV/aids followed at HCFMRP-USP and socioenvironmental constraints involved. Were collected 47 stool samples from 17 children aged four to 13 years living with HIV/aids followed at HCFMRP-USP, in the period from March to September 2013. Of the total, 52.9% of children were female and 47.1% male, and that 52.9% were brown, 35.3% white and 11.8% black. The analysis of intestinal coccidia opportunistic as *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora* spp. and *Cystoisospora* spp. was performed by the modified Ziehl Nielsen method, while for the research of *Giardia* spp. and other parasites was used by spontaneous sedimentation method by means of Kit Coproplus®. The presence of *Giardia* spp and *Cryptosporidium* spp. were confirmed by enzyme immunoassays for the detection of antigens (ELISA methods). Was still applied a questionnaire relating to socioenvironmental issues, behavioral habits and personal hygiene habits and food adopted by the children participating in the study and some additional information was collected from medical records of children. The results revealed a high frequency of parasites in children living with HIV/aids followed at HCFMRP-USP (76.5%), being represented by pathogens: *Giardia* spp. (35.3%), *Cryptosporidium* spp. (23.5%), *Cyclospora* spp. (5.9%), and commensal agent: *Entamoeba coli* (47.1%). Although it being waterborne protozoa, is considered that the water used by children is not the main route of transmission of these parasites, in view of the evidence that there are good-quality water that supplies the region, coming from the Guarani Aquifer. Thus, it is considered that the socioenvironmental characteristics, personal hygiene and food adopted by children as well as contact with other people and / or animals may have contributed to the enteroparasitosis frame. The high prevalence of parasites found in this study leads us to great concern in terms of public health, since the clinical picture for *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp. may progress to severe morbidity when there is a suppression of the immune system of the individual. Thus, it is concluded that some aspects are essential to improving the quality of life for children living with HIV/aids, among which stand out: early diagnosis for intestinal parasites, the implementation of coprologic analysis of emerging and reemerging protozoan in routine care of these patients, the correct use of antiretroviral therapy, as well as monitoring of the immunological characteristics.

Key-words: Children. HIV/aids. Emerging parasites. Reemerging parasites.

RESUMÉN

FREGONESI, B. M. **Prevalencia de parásitos emergentes y reemergentes de transmisión hídrica en niños con HIV/SIDA: énfasis para *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp.** Tesis (Maestría). 2013. 137h. Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

Las enfermedades de transmisión hídrica son causadas, principalmente, por microorganismos patógenos de origen entérica. A partir de la década de 1980, las enfermedades causadas por protozoos emergieron y reemergieron y se tornaron un problema de salud pública con relevancia en la actualidad, especialmente para grupos poblacionales más vulnerables, como personas que viven con HIV/SIDA. Este trabajo tuvo por objetivo evaluar la prevalencia de parásitos emergentes y reemergentes en niños que viven con HIV/SIDA atendidos en el HCFMRP-USP y los condicionantes socioambientales involucrados. Fueron colectadas 47 muestras de heces de 17 niños de 4 a 13 años que viven con HIV/SIDA atendidos en el HCFMRP-USP, en el periodo de marzo a setiembre de 2013. Del total, el 52,9% de los niños eran mujeres y el 47,1% hombres y 52,9% eran de color marrón, el 35,3% de blancos y el 11,8% de negro. El análisis de coccidios intestinales oportunistas, como *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. y *Cystoisospora* spp. fue realizado por el método de Ziehl Nielsen Modificado, para el análisis de quistes de *Giardia* spp. y otros parásitos fue utilizado el método de sedimentación espontánea por medio del Kit Coproplus®. La presencia de parásitos *Giardia* spp y *Cryptosporidium* spp. fue confirmada por medio de ensayos inmunoenzimáticos para detección de antígenos (métodos de Elisa). Fue aplicado un cuestionario referente a aspectos socioambientales, hábitos comportamentales y hábitos de higiene personal y alimentar adoptados por los niños y familias participantes del estudio y algunas informaciones adicionales fueron colectadas de los registros clínicos. Los resultados obtenidos revelaron una alta frecuencia de parásitos en niños que viven con HIV/SIDA atendidos en el HCFMRP-USP (76,5%), siendo representados por agentes patogénicos: *Giardia* spp. (35,3%), *Cryptosporidium* spp. (23,5%), *Cyclospora* spp. (5,9%); y agente comensal: *Entamoeba coli* (47,1%). A pesar de tratarse de protozoos de transmisión hídrica, se considera que el agua utilizada por los niños y sus familiares no es la principal vía de transmisión de esos parásitos, en función de las evidencias que existen de la buena calidad del agua que abastece la región, procedente del Acuífero Guaraní. De esa forma, se considera que las características socioambientales, los hábitos de higiene personal y alimentar adoptados por los niños, así como, el contacto con otras personas y/o animales pueden haber contribuido para el cuadro de entero-parasitosis. La alta prevalencia de parásitos encontrada en el presente estudio nos apunta grandes preocupaciones en términos de salud pública, una vez que el cuadro clínico para *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp, *Cyclospora* spp. puede evolucionar para cuadros clínicos graves cuando existe supresión del sistema inmunológico del individuo. De esa forma, se concluye que algunos aspectos se tornan imprescindibles para una mejoría de la calidad de vida de los niños que viven con HIV/SIDA, entre los cuales se destacan: el diagnóstico precoz para enteroparasitos, la implementación del análisis coprológico de protozoos emergentes e reemergentes en la rutina de la atención de esos pacientes, la utilización correcta de la terapia antirretroviral y el monitoreo de las características inmunológicas.

Palabras Claves: Niños. HIV/SIDA. Parasitos emergentes. Parasitos reemergentes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Formas evolutivas do parasita <i>Giardia</i> spp.....	30
Figura 2-	Ciclo biológico da <i>Giardia</i> spp.....	31
Figura 3-	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. corados por diferentes técnicas.....	32
Figura 4-	Ciclo biológico do <i>Cryptosporidium</i> spp. no ambiente.....	34
Figura 5-	Ciclo biológico do <i>Cryptosporidium</i> spp. dentro do hospedeiro.....	34
Figura 6-	Oocistos de <i>Cyclospora</i> spp. corados por diferentes técnicas.....	36
Figura 7-	Ciclo biológico do <i>Cyclospora</i> spp.....	37
Figura 8-	Oocistos de <i>Cystoisospora</i> spp. corados por diferentes técnicas.....	38
Figura 9-	Ciclo biológico da <i>Cystoisospora</i> spp.....	39
Figura 10-	Kit de coleta de fezes e as instruções de coleta e armazenamento entregue aos participantes da pesquisa. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	52
Figura 11-	Distribuição dos participantes da pesquisa segundo o número de coleta de fezes realizado em dias diferentes e alternado. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	53
Figura 12-	Lâmina composta pelos parasitas <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Cystoisospora</i> spp. e <i>Cyclospora</i> spp. corados pelo método Ziehl-Nielsen modificado....	56
Figura 13-	Kit Coproplus® (NL Comércio Exterior Ltda, São Paulo, Brasil), para análise de parasitas pelo método de sedimentação espontânea em amostras fecais. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	57
Figura 14-	Procedimento realizado no ELISA Sanduíche.....	58
Figura 15-	Kits para detecção de <i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i> em amostras fecais (Medivax, IVD Research).....	58
Figura 16-	Teste de ELISA representando as amostras diluídas e os controles nos poços durante o período de incubação.....	59
Figura 17-	Teste de ELISA representando o processo de lavagem dos poços com lavadora automática.....	60
Figura 18-	Teste de ELISA representando diferentes fases, com destaque para leitura visual e em leitora de microplaca.....	61

Figura 19-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo cor/raça e sexo. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	65
Figura 20-	Distribuição das famílias das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a renda familiar mensal e classe econômica. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	65
Figura 21-	Distribuição das famílias das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo o tipo de residência e a quantidade de pessoas que moram na casa. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	66
Figura 22-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo o consumo de alimentos crus e modo de higiene dos alimentos realizado na residência. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	68
Figura 23-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a prática de higienização das mãos. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	68
Figura 24-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo práticas recreativas e local em que nadam. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	69
Figura 25-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a classificação da infecção pelo HIV. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	71
Figura 26-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a realização de exame parasitológico de fezes e o tipo de diagnóstico que constam no prontuário. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	73
Figura 27-	Distribuição dos pacientes que vivem com HIV/aids atendidos no HCFMRP-USP segundo número e causas de internações devido a diarreia. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	74
Figura 28-	Lâminas com cistos de <i>Giardia</i> spp. visualizadas em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 40X, preparadas pelo método de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus® e coradas com lugol.....	77
Figura 29-	Oocistos de <i>Cryptosporidium</i> spp. visualizados pelo método de coloração de Ziehl-Nielsen modificado em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 100X.....	81
Figura 30-	Oocistos de <i>Cyclospora</i> spp. visualizados pelo método de coloração de Ziehl-Nielsen modificado em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 100X.....	84

Figura 31-	Adaptação de diagrama de ecomapa para representar os condicionantes socioambientais das infecções parasitárias de crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, Ribeirão Preto, SP. 2013.....	88
------------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Categorias imunológicas da classificação da infecção pelo HIV em crianças até 13 anos de idade.....	42
Tabela 2-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP de acordo com as condições de saneamento. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	67
Tabela 3-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo os fatores de risco relacionados ao contato com outras crianças e/ou animais. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	70
Tabela 4-	Distribuição das crianças de que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a contagem de linfócitos T CD4 e a carga viral circulante no sangue. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	72
Tabela 5-	Parasitas encontrados em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo idade e sexo. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	75
Tabela 6-	Prevalência de parasitas intestinais em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo o agente etiológico. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	76
Tabela 7-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo coinfeção associada a <i>Giardia</i> spp. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	77
Tabela 8-	Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo coinfeção associada ao <i>Cryptosporidium</i> spp. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	80
Tabela 9-	Distribuição dos parasitas identificados em familiares coabitantes da mesma residência das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP. Os dados foram organizados segundo idade, grau de parentesco e protozoários parasitas encontrados. Ribeirão Preto, SP. 2013.....	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Classificação da infecção pelo HIV em crianças até 13 anos de idade, segundo categorias clínicas.....	41
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABEP	Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
aids	Acquired Immunodeficiency Syndrome (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CMV	Citomegalovírus
EERP	Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
FDA	Food and Drug Administration
HIV	Human Immunodeficiency Virus (Vírus da Imunodeficiência Humana)
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HVS	Vírus do Herpes Simples
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LEPA	Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental
LIP	Pneumonia Intersticial Linfocítica
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
SAF	Tampão Acetato de Sódio
spp.	Espécies
T CD4	Linfócitos T que possuem moléculas CD 4 em sua superfície
UETDI	Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas
UNICEF	United Nations Children's Fund
USA	Estados Unidos da América
USEPA	United States Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)
USP	Universidade de São Paulo
WHO	World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 A água como veículo na transmissão de doenças.....	24
2.2 Protozoários parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica.....	25
2.3 Sistema imunológico <i>versus</i> enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids	26
2.4 Diarreia em pessoas que vivem com HIV/aids.....	27
2.5 Principais protozoários parasitas emergentes e reemergentes em pessoas que vivem com HIV/aids	29
2.5.1 <i>Giardia</i> spp.	30
2.5.2 <i>Cryptosporidium</i> spp.	32
2.5.3 <i>Cyclospora</i> spp.	36
2.5.4 <i>Cystoisospora</i> spp.....	38
2.6 A classificação da infecção pelo HIV em crianças de acordo com parâmetros clínicos, imunológicos e virológicos.....	40
2.6.1 Parâmetros clínicos.....	40
2.6.2 Parâmetros imunológicos	42
2.6.3 Parâmetros virológicos	43
3. OBJETIVOS	45
3.1 Objetivo geral	46
3.2 Objetivos específicos.....	46
4. MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1 Tipo de estudo	48
4.2 Aspecto ético	48
4.3 Local de estudo.....	48

4.4 Participantes do estudo	49
4.4.1 Crianças que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP).....	49
4.4.2 Membros familiares das crianças que vivem com HIV/aids	50
4.5 Validação do questionário	51
4.6 Levantamento de dados complementares	51
4.7 Coleta e análise parasitológica de amostras fecais	52
4.7.1 Coleta de amostras.....	52
4.7.2 Análise parasitológica de amostras fecais	53
4.8 Análise dos dados	61
4.8.1 Estatística descritiva	61
4.9 Devolutiva dos Resultados de Exames Parasitológicos	61
 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 63
5.1 Perfil socioeconômico das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	64
5.2 Fatores de risco para enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	67
5.3 Caracterização clínica das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	70
5.4 Caracterização imunológica e virológica das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	71
5.5 Dados referentes a exames e internações das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	73
5.6 Presença de parasitas em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	74
5.7 Parasitas patogênicos emergentes e reemergentes em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	76
5.7.1 <i>Giardia</i> spp. em crianças que vivem com HIV/aids.....	76
5.7.2 <i>Cryptosporidium</i> spp. em crianças que vivem com HIV/aids	80

5.7.3 <i>Cyclospora</i> spp. em crianças que vivem com HIV/aids	83
5.8 Parasitas comensais em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP	86
5.8.1 <i>Entamoeba coli</i> em crianças com HIV/aids	86
5.9. Condicionantes socioambientais que influenciam as enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids.....	86
6. CONCLUSÕES.....	95
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICES	115
APÊNDICE A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.	116
APÊNDICE B- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os demais participantes da pesquisa	118
APÊNDICE C- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos Especialistas	120
APÊNDICE D- Coleta de Informações sobre condições sócio-demográficas, hábitos de higiene alimentar e pessoal e padrão e características das evacuações das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP.....	122
APÊNDICE E- Informações complementares extraídas do prontuário do paciente	128
APÊNDICE F- Quadro referente aos dados do questionário respondido pelos responsáveis das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP. Ribeirão Preto. 2013.	130
APÊNDICE G- Quadro referente aos dados que constam nos prontuários das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP. Ribeirão Preto. 2013.	132
ANEXOS	133
ANEXO A- Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (nº159.935)	134

1. INTRODUÇÃO

As doenças de veiculação hídrica são causadas, principalmente, por micro-organismos patogênicos de origem entérica. A partir da década de 1980, as enfermidades causadas por protozoários parasitas emergiram e reemergiram e se tornaram um problema de saúde pública com relevância na atualidade (SMITH et al., 2006). A maior preocupação nesse contexto é a limitação que processos convencionais de tratamento de água apresentam na remoção e/ou inativação de alguns protozoários patogênicos, dentre os que se destacam *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp., parasitas resistentes à filtração e à ação do cloro (WRIGHT; COLLINS, 1997; ROSE; HUFFMAN; GENNACCARO, 2002).

A água contaminada por (oo)cistos dos citados protozoários pode levar à infecção do hospedeiro de forma indireta, mediante a ingestão para consumo, ingestão acidental e contaminação dos alimentos; ou pela forma direta que se dá por meio da rota fecal-oral por contato interpessoal ou contato com animais infectados (NETO et al., 2008; CDC, 2013).

Idosos, crianças, gestantes e imunodeprimidos fazem parte da população mais vulnerável a desenvolver morbidades e complicações quando expostos a patógenos oportunistas (IGNOTO, 2010), dentre os quais se destacam as pessoas que vivem com HIV/aids (vírus da imunodeficiência humana/ síndrome da imunodeficiência adquirida).

Entre as possíveis manifestações clínicas da aids, a diarreia representa uma grande preocupação, principalmente para a população infantil, pois apesar da associação entre aids e diarreia, poucas pesquisas foram realizadas para identificar patógenos entéricos neste grupo populacional. De acordo com Rossit (2007), crianças com o sistema imunológico suprimido além de serem mais vulneráveis a desenvolver doenças quando expostas a patógenos clássicos são também mais susceptíveis a infecções causadas por diferentes agentes oportunistas. Sabe-se ainda que o quadro de morbidade nas crianças que vivem com HIV/aids pode se agravar levando à desnutrição, retardo no crescimento e consequente morte (VILLAMOR et al., 2004).

Vários protozoários têm sido associadas com diarreia em pessoas vivendo com HIV/aids. Dentre os mais comumente relatados se encontram *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp., além de espécies *Microsporidium* e *Entamoeba histolytica* (GUPTA et al., 2008).

As doenças causadas por *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp. são geralmente assintomáticas ou causam uma diarreia autolimitada em pessoas imunocompetentes. Em contrapartida, em indivíduos imunodeprimidos, as enfermidades infecciosas podem evoluir para um quadro crônico de diarreia causando

distúrbios eletrolíticos, desidratação e desnutrição, o que pode levar a morte (FRENKEL et al., 2003; OLIVEIRA-SILVA et al., 2007; NETO et al., 2008; POPULIN et al., 2009).

Sabe-se que a água constitui uma potencial fonte de contaminação por protozoários parasitas oportunistas e estudos que abordem sua veiculação hídrica são escassos no Brasil. A implantação Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde recomenda o monitoramento de protozoários patogênicos em água perante sua significância sanitária Saúde (BRASIL, 2011a). Além disso, o nível socioeconômico, o saneamento básico, bem como os hábitos comportamentais e de higiene dos grupos populacionais, contribuem de forma significativa para qualidade de vida de pessoas que possuem o sistema imunológico menos competitivo.

Desta forma, o presente estudo torna-se relevante perante o quadro de morbidade e mortalidade apresentado por crianças que vivem com HIV/aids que são infectadas por protozoários parasitas levando em consideração questões associadas à saúde ambiental.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A água como veículo na transmissão de doenças

Desde Hipócrates (400 a. C), o conceito de saúde vem sendo relacionado à influências ambientais, modo de vida, hábitos de higiene e vários outros componentes da vida humana (VILELA; MENDES, 2000). Capra (1982) define a saúde como um fenômeno multidimensional tratando-se de uma experiência de bem estar envolvendo aspectos físicos e psicológicos do organismo, assim como suas interações com o meio ambiente natural e social.

Neste mesmo contexto, a Organização Mundial da Saúde, conceitua saúde como “estado de completo bem estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doença”, sendo que os principais determinantes da saúde incluem o ambiente social e econômico, o ambiente físico e as características e comportamentos individuais da pessoa (WHO, 2013). No que diz respeito ao ambiente físico, questões envolvendo água potável e ar limpo, locais de trabalho saudáveis, casas seguras, comunidades e estradas, contribuem para uma boa saúde. Sabe-se ainda que garantir a sustentabilidade, ou seja, promover o desenvolvimento com o uso racional dos recursos naturais, assegurando a qualidade de vida da população e a sobrevivência das gerações futuras, faz parte do 7.º Objetivo de Desenvolvimento do Milênio, estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2013).

A disponibilidade de água segura e adequadas condições de saneamento são dois fatores ambientais chaves para a qualidade da vida humana, e fazem parte de um amplo leque de recursos e serviços naturais que compõem o nosso meio ambiente (WHO, 2013). Saneamento é definido como um conjunto de medidas de infraestrutura, serviços e instalações operacionais de abastecimento de água potável, esgotamento sanitário, limpeza urbana, manejo de resíduos sólidos e manejo de águas pluviais que garantem condições básicas para o desenvolvimento das comunidades (BRASIL, 2007a).

Segundo a WHO (2011), o saneamento é um direito humano, sendo que falhas que afetam seu acesso ou sua utilização podem comprometer a saúde das populações. De acordo com dados recentes, 39% da população mundial não tem acesso ao saneamento básico ou este é deficitário e 13% não tem acesso à água potável (WHO; UNICEF, 2010).

Constata-se que anualmente ocorrem quatro bilhões de casos de diarreia no mundo, especialmente em crianças, dos quais 88% são atribuídos à inadequada qualidade da água, à falta de saneamento básico e a precárias condições de higiene. Estima-se que 1,8 milhões de pessoas chegam a óbito (WHO, 2007).

Diante desse cenário, a associação da água como um importante fator na veiculação de diversas doenças ao homem foi estudada por vários autores em diferentes regiões do mundo. Cabe destacar, entretanto, que as parasitoses intestinais, estão associadas às condições

demográficas e socioeconômicas das populações, ocorrendo especialmente em regiões menos desenvolvidas de clima tropical, onde constituem um importante problema de saúde pública relacionado à pobreza (DELGADO, 2010).

Estudos desenvolvidos em regiões ou comunidades brasileiras de baixa renda têm apresentado taxas de prevalência de diversas infecções por parasitoses intestinais sendo que ocorrem variações com relação aos níveis de saneamento e as características culturais das populações analisadas (TOLEDO et al., 2009; BARRETO et al., 2010).

As doenças de veiculação hídrica são causadas, principalmente, por micro-organismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na água ou em alimentos contaminados por água (GRABOW, 1996). Entre os diversos agentes biológicos encontrados na água contaminada estão bactérias, vírus, protozoários e helmintos (SOTO et al., 2007).

2.2 Protozoários parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica

São denominados protozoários parasitas emergentes aqueles que surgiram, ou foram identificados, em período recente, ou aqueles que assumiram novas condições de transmissão, seja devido a modificações das características do agente infeccioso, ou passando de parasitas raros e restritos para constituírem problemas de saúde pública. Os reemergentes, por sua vez, são parasitas já conhecidos e que ressurgiram como problema de saúde pública, após terem sido controlados no passado (BRASIL, 2010).

A partir da década de 1980, as doenças de veiculação hídrica causadas por protozoários parasitas emergiram e reemergiram e se tornaram um problema de saúde pública de relevância na atualidade (SMITH et al., 2006). De acordo com dados recentes, os protozoários parasitas foram responsáveis por no mínimo 325 surtos de veiculação hídrica em nível mundial nos últimos anos. Dentre as várias espécies, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foram os mais comumente relatados na maioria dos surtos, atingindo um percentual de 50,8 e 40,6 respectivamente (KARANIS; KOURENTI; SMITH, 2007).

Sabe-se que os protozoários de veiculação hídrica têm como característica comum resistir por meses no ambiente externo, permanecendo viáveis por mais de 150 dias em água e por até 130 dias em fezes (PEREIRA et al., 2010). Uma das grandes preocupações é a limitação que os processos convencionais de tratamento de água apresentam na remoção e/ou inativação de alguns protozoários, dentre os que se destacam *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp. que são parasitas resistentes à filtração e à ação do

cloro (NIEMINSKY; ONGERTH, 1995; WRIGHT; COLLINS, 1997; PEREIRA et al., 2009; CDC, 2013).

Pesquisas realizadas ao redor do mundo confirmaram a ubiquidade de *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp. no ambiente aquático. A presença de (oo)cistos destes parasitas já foi relatada em diversos países em águas tratadas e em águas brutas, provenientes de fontes superficiais (rios, lagos e mares) bem como de fontes subterrâneas e pluviais (MACKENZIE et al., 1994; SIMMONS et al., 2001; DI BENEDETTO et al., 2005; COUPE et al., 2006; SUNDERLAND et al., 2007; GAUT et al., 2008; PÉREZ-CORDÓN et al., 2008; YANG et al., 2008; LIM et al., 2009; MAGANA-ORDORICA et al., 2010; NETO et al., 2010; FREGONESI et al., 2012; SATO et al., 2013).

A água contaminada por (oo)cistos dos citados protozoários pode levar à infecção do hospedeiro de forma indireta, mediante a ingestão para consumo, ingestão acidental e contaminação dos alimentos; ou pela forma direta que se dá por meio da rota fecal-oral por contato interpessoal ou contato com animais infectados (NETO et al., 2008).

Dessa forma, torna-se evidente que a incidência de protozoários parasitas nas populações sofre influência de fatores relacionados à exposição ambiental, como a disponibilidade de água potável, saneamento, práticas de higiene pessoal e alimentar bem como aos hábitos comportamentais (LEITCH; HE, 2012).

Estima-se que, pelo menos, um quarto da população mundial esteja infectada cronicamente com parasitas intestinais, e que a maioria dessas pessoas vivem em países em desenvolvimento (ALEMU et al., 2011).

Pessoas idosas, crianças, gestantes e pessoas com o sistema imunológico suprimido fazem parte da população mais vulnerável a desenvolver doenças quando expostas a protozoários patogênicos (IGNOTO, 2010). Dentre os grupos de vulnerabilidade, destacam-se as pessoas que vivem com HIV/aids (vírus da imunodeficiência humana/ síndrome da imunodeficiência adquirida).

2.3 Sistema imunológico *versus* enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids

Desde o surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA ou AIDS), uma elevada prevalência de infecções gastrointestinais tem sido descrita, especialmente em relação ao aparecimento de diarreia associada a parasitoses (DWIVEDI et al., 2007; AGHOLI; HATAM; MOTAZEDIAN, 2013). Nos estágios iniciais da infecção pelo HIV, os pacientes são vulneráveis aos mesmos patógenos entéricos que causam diarreia entre indivíduos imunocompetentes. Com a evolução da doença e consequente ataque do sistema

imunológico pelo vírus, essas pessoas tornam-se susceptíveis a outras desordens, chamadas de oportunistas (BRASIL, 2013).

Neste contexto, diversos parasitas têm sido observados principalmente em pacientes com número de linfócitos T CD4 menor que 200 células/mm³ (15%) (POPULIN et al., 2009). Sabe-se que o comprometimento dessas células causa uma irregularidade e supressão da imunidade, tornando o indivíduo mais suscetível a infecções por inúmeros micro-organismos (MACHADO et al., 1994).

Em um estudo realizado durante dez anos foi avaliada a frequência de *Cryptosporidium* sp. e *Cystoisospora belli* em pacientes que vivem com HIV/aids na região do Triângulo Mineiro, Brasil. Como resultado, foi obtida uma prevalência de parasitária de 19,7% na população envolvida, com a seguinte distribuição: 10,3% de *Cystoisospora belli*, 8,6% de *Cryptosporidium* spp. e 0,8% de ambos). Os pacientes com diarreia e níveis de linfócitos T CD4 < 200 células/mm³ apresentaram maior frequência destes protozoários, demonstrando o perfil oportunista destas infecções e a relação com o perfil imunológico do indivíduo (OLIVEIRA-SILVA et al., 2007).

Crianças com o sistema imunológico suprimido além de serem mais vulneráveis a doenças causadas por patógenos clássicos são também mais susceptíveis a infecções causadas por diferentes agentes oportunistas (ROSSIT et al., 2007). Neste contexto, um estudo desenvolvido no Egito, constatou que a prevalência de parasitas em crianças internadas que apresentaram diarreia foi maior naquelas que apresentaram imunossupressão (94%) quando comparada com a prevalência em crianças imunocompetentes (60%), ressaltando a importância da pesquisa de patógenos nessa população devido ao grau de morbidade associado (ABDEL-HAFEEZ et al., 2012).

2.4 Diarreia em pessoas que vivem com HIV/aids

Diarreia é definida como o aumento no número de evacuações de um determinado indivíduo com perda da consistência das fezes dentro de um período de 24 horas. A diarreia aguda possui duração de até 14 dias; a diarreia persistente tem duração superior a 14 dias e inferior a três semanas; e a diarreia crônica quando ultrapassa três semanas (FERNANDES; GALVÃO; SAWAMURA, 2013; WHO, 2013).

Sabe-se que entre as possíveis manifestações clínicas da aids, a diarreia representa uma grande preocupação, principalmente para a população infantil. Segundo Chaisson et al. (1998), as infecções oportunistas que causam doenças intestinais constituem um importante problema de saúde em pacientes infectados com HIV e são uma das principais causas de

morbidade e mortalidade nesses indivíduos em todo o mundo.

A mucosa intestinal normal constitui uma importante barreira natural contra infecções. A diminuição progressiva dos mecanismos imunológicos, humoral e celular de defesa da mucosa intestinal, torna o intestino um órgão particularmente susceptível a infecções por patógenos entéricos (BOTERO, et al., 2003). Mudanças histológicas do epitélio intestinal, como por exemplo, a atrofia das vilosidades, causadas pelo próprio HIV, podem desencadear a ocorrência de diarreia, má absorção de nutrientes, esteatorreia e diminuição do peso corporal, que persiste mesmo na ausência de patógenos identificáveis (POLACOW et al., 2004; BACHUR, 2007). Porém a presença de enteropatógenos em pessoas que vivem com HIV/aids que apresentam diarreia, agrava as alterações na mucosa do intestino, interferindo na avaliação do comprometimento intestinal pelo vírus e contribuindo de forma significativa para o aumento da morbidade e mortalidade desses pacientes (BACHUR, 2007).

A reconstituição do sistema imunológico pela terapia antirretroviral utilizada nos dias atuais tem levado a alguma modificação na incidência de diarreia entre os portadores de HIV. Paradoxalmente, alguns desses medicamentos utilizados para controle da infecção pelo HIV podem desencadear alterações gastrointestinais nos pacientes em tratamento, tendo como consequência a ocorrência de episódios diarreicos moderados a severos (BRASIL, 2007b).

Cabe salientar que as pessoas que vivem com HIV/aids, podem ter outras causas não infecciosas de diarreia, como a deficiência de lactase e a pancreatite crônica (LEW; POLES; DIETERICH, 1997; JAH et al., 2012). Dessa forma, o diagnóstico etiológico torna-se uma ferramenta de indubitável relevância, uma vez que, os pacientes poderão ser medicados e os sintomas amenizados, dificultando as complicações decorrentes de infecções parasitárias. Além disso, os métodos de detecção de parasitas em fezes são simples e não trazem complicações aos pacientes por serem não invasivos.

Jha et al. (2012) realizaram um estudo a fim de verificar causas infecciosas em pacientes que vivem com HIV/aids, que apresentavam diarreia, atendidos em um Hospital na Índia, no qual a presença de parasitas foi correlacionada com a contagem de células T CD4. Dentre as causas mais comuns de diarreia, estavam os parasitas *Cryptosporidium parvum* cuja prevalência foi de 60,42% e *Cystoisospora belli* com 9,03%. Taxas de isolamento de patógenos também foram maiores em pacientes com contagens de T CD4 < 200 células/mm³. Tal estudo destaca a importância do diagnóstico precoce de patógenos intestinais que causam diarreia em pessoas que vivem com HIV/aids, uma vez que, poderia contribuir para uma melhor qualidade de vida desses pacientes.

Apesar da associação entre aids e diarreia, poucas pesquisas foram realizadas para

identificar patógenos entéricos na população infantil com HIV/aids (ROSSIT et al., 2007). Sabe-se ainda que a situação dos casos de aids no Brasil segue tendências mundiais apresentando um número crescente devido à transmissão heterossexual e, como consequência, um aumento no número da transmissão de HIV de mãe para filho, também chamada de transmissão vertical (ROSSIT et al., 2007).

Rossit et al. (2007) realizaram um estudo para determinar a frequência de enteropatógenos na população infantil que vivem com HIV/aids atendidas em um Hospital da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Brasil. Dentre os protozoários encontrados, o *Cryptosporidium parvum* foi o mais comum agente parasitário detectado (62%), seguido por *Giardia lamblia* (9%) e *Entamoeba histolytica* (1%). O estudo ainda revelou que, embora a maioria dessas crianças não apresentasse diarreia como sintoma, elas ainda serviam como portadores dos parasitas, o que poderia agravar o quadro futuramente desenvolvendo distúrbios gastrointestinais por conta dessa infecção.

2.5 Principais protozoários parasitas emergentes e reemergentes em pessoas que vivem com HIV/aids

Vários protozoários têm sido associados com diarreia aguda e crônica em pessoas vivendo com HIV/aids. Dentre os mais comumente relatados se encontraram os parasitas emergentes e reemergentes, representados por *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp. (GUPTA et al., 2008).

Gupta et al. (2008) estudaram a prevalência de parasitas intestinais em amostras fecais de pacientes vivendo com HIV/aids. De acordo com os resultados, os parasitas mais frequentes foram *Cystoisospora belli* (50%), seguido de *Cryptosporidium* spp. (23,6%), *Giardia duodenalis* (7,8%) e *Cyclospora cayetanensis* (2,6%).

No mesmo contexto, Cimerman et al. (2002) realizaram um estudo sobre a frequência de enteroparasitas mais diagnosticados em pacientes com HIV/aids e incluíram a prevalência em relação ao sexo e idade. Dentre os parasitas encontrados, a *Giardia duodenalis* apareceu com uma prevalência de 13,0%, *Cystoisopora belli* com 12,3% e *Cryptosporidium parvum* com 6,8%. O estudo ainda revelou que a presença de *Giardia duodenalis* foi mais comum em crianças com HIV/aids do que em adultos e também em homens com práticas homossexuais. Para os demais parasitas não houve diferenças entre sexo e idade.

Sabe-se que as enteroparasitoses podem agravar o quadro clínico das crianças que vivem com HIV/aids, levando à desnutrição, retardo no crescimento e posterior morte (VILLAMOR et al., 2004).

Kashyap et al. (2010) salientam a importância de haver uma combinação de procedimentos para o rastreio de amostras de fezes de pessoas que vivem com HIV/aids para um melhor diagnóstico de infecções parasitárias e consequente melhor qualidade de vida dos pacientes. Além disso, é recomendado que três amostras de fezes sejam coletadas em dias separados a fim de aumentar a sensibilidade do teste (CDC, 2013).

2.5.1 *Giardia* spp.

Giardia spp. é um protozoário flagelado, apresentando duas formas evolutivas: o trofozoíto e o cisto. O trofozoíto tem formato de pera, com simetria bilateral e mede 20µm de comprimento por 10µm de largura, possuindo quatro pares de flagelos. A forma parasitária infectante é o cisto, que possui o formato oval ou elipsoide, medindo cerca de 12µm de comprimento por 8 µm de largura (NEVES, 2005). As formas evolutivas da *Giardia* spp. São apresentadas na Figura 1.

Figura 1- Formas evolutivas do parasita *Giardia* spp.
Fonte: Adaptado de CDC, 2013.

Para haver a contaminação de um hospedeiro susceptível, a dose média infectante é de 25 a 100 cistos, sendo que durante uma manifestação sintomática pelas fezes podem ser eliminados até $1,44 \cdot 10^9$ cistos (KARANIS; KOURENTI; SMITH, 2007).

Giardia duodenalis foi observado pela primeira vez em 1681 por Antony van Leeuwenhoek, e ainda hoje continua sendo um dos protozoários parasitas intestinais mais comumente relatados em seres humanos de todo o mundo (ROBERTSON et al., 2010). Muitos autores consideram *Giardia* spp. um parasita reemergente devido ao constante aumento dos números de casos de infecção, particularmente, em crianças que frequentam ou vivem em ambientes coletivos bem como pela alta prevalência que tem sido observada em

animais de estimação, relatando a importância para saúde pública devido ao seu potencial na transmissão interpessoal e zoonótica (THOMPSON et al., 2000).

Giardia duodenalis, também conhecida como *G. lamblia* e *G. intestinalis*, é a espécie que acomete hospedeiros humanos parasitando o intestino delgado, especialmente o duodeno, (TEIXEIRA; HELLER; BARRETO, 2011) e assim desencadeando a giardíase, que é a causa mais comum de gastroenterite em todo o mundo (WENSAAS; LANGELAND; RORTVEIT, 2010). O ciclo biológico do parasita está apresentado na Figura 2.

Figura 2- Ciclo biológico da *Giardia* spp.

Fonte: Adaptado de CDC (2013).

A infecção ocorre pela ingestão de cistos em água contaminada, alimentos ou por via fecal-oral direta. Após a ingestão do cisto, o desencistamento é iniciado no meio ácido do estômago e completado no duodeno e jejuno, onde ocorre a colonização do intestino delgado pelos trofozoítos. Os trofozoítos se multiplicam por divisão binária longitudinal: após a divisão nuclear e duplicação das organelas, ocorre a divisão do citoplasma, resultando assim dois trofozoítos binucleados. O ciclo se completa pelo encistamento do parasito no cólon, e sua eliminação para o meio exterior por meio das fezes (NEVES, 2005; CDC, 2013).

O cisto é a fase mais comumente encontrada nas fezes não diarreicas, enquanto que os trofozoítos são encontrados em grande quantidade na fase aguda da doença, quando o indivíduo apresenta diarreia (ARRUDA, 2008). Além disso, pelo fato da giardíase ser

considerada uma zoonose, é importante relatar que vários hospedeiros animais podem contribuir para contaminação ambiental.

A doença apresenta um quadro clínico diverso, que varia desde indivíduos assintomáticos até um quadro de diarreia aquosa e autolimitante, ou um quadro de diarreia persistente e crônica com evidência de má absorção e perda de peso, que muitas vezes não responde aos tratamentos específicos, mesmo em indivíduos imunocompetentes (NEVES, 2005). Sabe-se, porém, que indivíduos imunodeprimidos são mais susceptíveis a essa infecção e os sintomas são mais prolongados (NETO et al., 2008).

Diferentes fatores podem influenciar na eficácia dos medicamentos utilizados para o tratamento, incluindo o histórico médico, o estado nutricional e a condição do sistema imunológico da pessoa infectada (CDC, 2013). Alguns dos medicamentos indicados para tratamento de giardíase em pacientes que vivem com HIV/aids incluem o Metronidazol e a Nitazoxanida (CIMERMAN; CIMERMAN, 1996; CIMERMAN, CIMERMAN; LEWI, 1999; ABOUD et al., 2001).

2.5.2 *Cryptosporidium* spp.

O *Cryptosporidium* spp. é um protozoário parasita coccídeo intracelular obrigatório das células epiteliais do trato gastrointestinal de vários hospedeiros animais, inclusive humanos (NEVES, 2005). Os oocistos, formas de resistência, são esféricos ou elípticos, com parede lisa e dupla, e medem de 4 a 6 μm de diâmetro. No interior dos oocistos há quatro esporozoítos (sem esporocistos) e um corpo residual. Existem dois tipos de oocistos: os de parede espessa (80%) e os de parede delgada (20%) (USEPA, 2005; PEREIRA, 2009). A Figura 3 mostra oocistos de *Cryptosporidium* spp. corados por diferentes técnicas.

Figura 3- Oocistos de *Cryptosporidium* spp. corados por diferentes técnicas.

Fonte: Adaptado de CDC, 2013.

O primeiro caso de infecção humana foi relatado em 1976, em uma criança de três anos e no mesmo ano houve um caso de cryptosporidiose em um adulto imunodeprimido (PEREIRA et al., 2009). Dessa forma, a doença ganhou importância no início dos anos 80, com o aparecimento do HIV/aids e a seguir com os surtos de veiculação hídrica, sendo classificada como uma zoonose emergente (NEVES, 2005; PEREIRA et al., 2009).

No Brasil, e nos demais países em desenvolvimento, o protozoário representa causa de morbidade e mortalidade em crianças de zero a cinco anos de idade e em pacientes portadores de HIV/aids (PEREIRA et al., 2009). Nos países de baixa renda, a diarreia é a terceira principal causa de morte, sendo que 20% de todos os casos de diarreia infantil são causadas pelo *Cryptosporidium* spp. Nos países desenvolvidos, os surtos de cryptosporidiose também ocorrem regularmente, sendo que um dos maiores já documentados até hoje ocorreu em Milwaukee, em 1993, devido a uma falha na instalação de tratamento de água potável (HOFSTRA et al., 2013).

A cryptosporidiose humana pode ser causada por *Cryptosporidium andersoni*, *C. baileyi*, *C. canis*, *C. felis*, *C. hominis*, *C. meleagridis*, *C. muris*, *C. parvum* e *C. suis* (FAYER, 2010). Nos países em desenvolvimento, mais de 70% da infecção por *Cryptosporidium* em crianças são causadas por *Cryptosporidium hominis* enquanto que *Cryptosporidium parvum* é a principal espécie relatada em países desenvolvidos (XIÃO, 2010). Dessa forma, *C. hominis* e *C. parvum* são consideradas as espécies de maior relevância em saúde pública, uma vez que foram responsáveis por diversos surtos de veiculação hídrica em diferentes países (NETO et al., 2008). Todavia, é importante relatar que os indivíduos imunodeprimidos são susceptíveis a uma grande variedade de espécies (FAYER; MORGAN; UPTON, 2000).

A infecção por *Cryptosporidium* spp. acontece por meio da ingestão dos oocistos infectantes presentes na água ou em alimentos. Para que haja a contaminação de um hospedeiro susceptível, poucos oocistos são necessários, sendo que apenas nove já podem desencadear uma infecção. Em contrapartida, cerca de 10^{10} oocistos podem ser eliminados durante uma manifestação sintomática pelas fezes (KARANIS; KOURENTI; SMITH, 2007). O ciclo do parasita está apresentado na Figura 4 e 5, a seguir.

Figura 4- Ciclo biológico do *Cryptosporidium* spp. no ambiente.
Fonte: Adaptado de CDC (2013).

Figura 5- Ciclo biológico do *Cryptosporidium* spp. dentro do hospedeiro.
Fonte: Adaptado de CDC (2013).

No intestino do hospedeiro ocorre o desencistamento e os esporozoítos liberados penetram nas microvilosidades intestinais, geralmente no jejuno ou íleo, ou no trato respiratório. Nesse local os esporozoítos transformam-se em trofozoítos e sofrem divisão múltipla, formando o meronte, onde são gerados merozoítos de tipo I ou II, por meio de reprodução assexuada. Os merozoítos de tipo I são capazes de infectar outras células e repetir

a reprodução assexuada. Já os de tipo II iniciam o ciclo sexuado, gerando gametas masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócitos). Após a fecundação, o zigoto sofre meiose e dá origem ao oocisto esporulado, que é eliminado para o ambiente juntamente com as fezes do hospedeiro (Figura 5). O ciclo biológico completa-se geralmente entre 12 e 14 horas e pode variar de acordo com o hospedeiro e a espécie de *Cryptosporidium*. O oocisto esporulado é a única forma exógena e já se torna infectante ao ser eliminado, o que facilita a sua transmissão (CDC, 2013).

As manifestações clínicas da cryptosporidiose variam com a espécie do parasita bem como com a idade e estado imunológico do hospedeiro (XIÃO et al., 2004). Nos indivíduos imunocompetentes a infecção pode ser assintomática ou causar uma diarreia autolimitada com duração de uma ou duas semanas (REY, 2002). Diferentemente, nos imunodeprimidos, a duração da diarreia pode ultrapassar quatro semanas, sendo que não evolui para uma cura espontânea, o que pode acarretar na morte do indivíduo por distúrbios eletrolíticos, desidratação e desnutrição, uma vez que, em 24h pode eliminar de 17 a 20 litros de fezes (OLIVEIRA-SILVA et al., 2007; NETO et al., 2008; POPULIN et al., 2009).

Para tratamento, medicamentos antidiarreicos podem ajudar a melhorar os sintomas, sendo que Nitazoxanida foi aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de diarreia causada por *Cryptosporidium* em indivíduos imunocompetentes. Entretanto, sua eficácia para imunodeprimidos ainda não é clara (ROSSIGNOL, 2010; CDC, 2013). Já o Ministério da Saúde recomenda terapia com imunoglobulina hiperimune associada com Zidovudine para pessoas que vivem com HIV/aids e Azitromicina ou Roxitromicina para indivíduos imunocompetentes (BRASIL, 2010).

Em indivíduos que vivem com HIV/aids, a literatura aponta redução no número de evacuações, do número de oocistos eliminados nas fezes e do volume de fezes, utilizando alguns medicamentos, tais como Sinefungina, Azitromicina, Roxitromicina, Paromomicina e Nitazoxanida. Contudo, a erradicação completa do parasita não tem sido normalmente relatada (LEITCH; HE, 2012).

Sabe-se que a terapia antirretroviral, tende a melhorar o estado imunológico do indivíduo bem como diminuir ou eliminar os sintomas da cryptosporidiose. No entanto, mesmo que os sintomas desapareçam, a doença não é curável e os sintomas podem voltar a se manifestar quando o sistema imunológico enfraquecer novamente (CDC, 2013).

2.5.3 *Cyclospora* spp.

Cyclospora spp. é um protozoário parasita unicelular coccídio, cuja dimensão é de 8 a 10 µm de tamanho, quase o dobro dos oocistos de *Cryptosporidium* spp, além de apresentar uma parede mais espessa (NETO et al., 2008; ORTEGA; SANCHEZ, 2010). A Figura 6 representa oocistos de *Cyclospora* spp. corados por diferentes técnicas.

Figura 6- Oocistos de *Cyclospora* spp. corados por diferentes técnicas.
Fonte: Adaptado de CDC, 2013.

Cyclospora spp. é um parasita intracelular obrigatório que infecta o epitélio da mucosa do ducto biliar do intestino de hospedeiros vertebrados, especialmente humanos. Sabe-se, porém que uma única espécie foi encontrada em invertebrados (*Cyclospora glomericola*) (LAISON, 2005; CDC, 2013).

No entanto, o coccídeo só foi documentado como patógeno humano significativo recentemente, sendo reconhecido como um protozoário emergente. A designação de *Cyclospora cayetanensis* foi dada em 1994 por um peruano que isolou *Cyclospora* em seres humanos. No entanto, ainda não está estabelecido se todos os casos humanos são causados por esta espécie (CVE, 2013). O ciclo de vida do parasita está apresentado na Figura 7.

Figura 7- Ciclo biológico do *Cyclospora* spp.

Fonte: Adaptado de CDC (2013).

A transmissão do parasita se dá pela rota fecal-oral. Após ingestão de oocistos infectantes, eles se excistam no trato gastrointestinal, libertando os merozoítos que invadem as células epiteliais do intestino delgado. Dentro das células sofrem multiplicação assexuada e o posterior desenvolvimento sexual onde ocorre amadurecimento em oocistos, que será liberado nas fezes. Seu desenvolvimento em oocistos esporulados infectantes pode levar dias ou semanas no meio ambiente, sendo que os modos mais prováveis de transmissão se dá por meio da água e de alimentos contaminados (MAREK et al., 2012; CDC, 2013).

A doença causada pela ingestão de *Cyclospora cayetanensis* é a cyclosporidiose, de gravidade variável, sendo considerada cosmopolita, embora pareça ser mais comum em regiões tropicais e subtropicais (CDC, 2013).

O sintoma mais comum da doença é a diarreia aquosa, sendo que o indivíduo pode apresentar-se assintomático. Em pessoas imunocompetentes, os sinais clínicos são breves e autolimitados. Porém, em pacientes imunodeprimidos, a cyclosporidiose pode se caracterizar por causar diarreia crônica prolongada ultrapassando um período de 30 dias além de incluir outros sintomas como náuseas, anorexia e cólicas abdominais (NEVES, 2005; NETO et al., 2008; HALL et al., 2011).

2.5.4 *Cystoisospora* spp.

Cystoisospora spp. é um protozoário parasita coccídeo que apresenta oocisto ovalado medindo de 22 a 33 µm de comprimento por 12 a 15 de largura, possuindo dois esporocistos com quatro esporozoítos dentro de cada um (NEVES, 2005; NETO et al., 2008). A figura 8 mostra oocistos de *Cystoisospora* spp. corados por diferentes técnicas.

Figura 8- Oocistos de *Cystoisospora* spp. corados por diferentes técnicas.

Fonte: Adaptado de CDC, 2013.

Duas espécies têm sido descritas em humanos, *Cystoisospora belli*, a mais comumente encontrada, e *Cystoisospora natalensis*, descrita somente na África do Sul (NEVES, 2005).

A infecção humana se dá pela rota fecal-oral, especialmente por meio da ingestão de oocistos esporulados com a água e alimentos contaminados com fezes humanas e, portanto, não é considerada uma zoonose (NEIRA, 2010). O ciclo biológico do parasita está apresentado na Figura 9.

Figura 9- Ciclo biológico da *Cystoisospora* spp.

Fonte: Adaptado de CDC (2013).

No momento da excreção de fezes, o oocisto é imaturo e usualmente contém apenas um esporoblasto. Durante a maturação o esporoblasto se divide em dois e a partir daí secretam uma parede do oocisto, tornando-se assim esporocistos. Cada esporozoítos se divide duas vezes, resultando em quatro esporozoítos. A infecção ocorre pela ingestão de oocistos maduros (esporulados). Após a ingestão, o oocisto esporulado rompe no intestino liberando os esporozoítos que invadem os enterócitos. No fim do crescimento do esporozoítos o núcleo começa a se dividir várias vezes, de forma assexuada, o que resulta em uma forma multinucleada, o esquizonte. Depois da formação do esquizonte, ocorre uma repetição da etapa anterior, processo que passa a se denominar esquizogonia. Sua função é produzir merozoítos, permitindo a invasão de novas células hospedeiras. A partir desses merozoítos pode recomeçar outro ciclo assexuado ou iniciar um processo de reprodução sexuada (esporogonia). O ciclo sexuada tem início quando os merozoítos se diferenciam em gametócitos no interior do enterócito, sendo que aqueles que se destinam a produzir gametas masculinos são os microgametócitos, e os que se transformarão em gametas femininos são os macrogametócitos. Quando o microgametócito é liberado do enterócito, invade a célula onde está o macrogametócito formando o zigoto, que logo se encista, e por isso passa a se chamar oocisto, que é eliminado nas fezes na forma imatura. Dessa forma, a infecção por contato direto com outra pessoa é menos provável de ocorrer. O tempo da esporulação depende das

condições ambientais do solo onde está o oocisto. A esporulação só estará completa quando cada esporoblasto formar esporozoítas, que é o que caracteriza o oocisto infectante (CDC, 2013).

O *Cystoisospora* spp. é o parasita intestinal responsável por causar uma doença denominada cystoisosporidiose. Em pacientes imunocompetentes, a infecção é autolimitada com sintomas de diarreia, cefaleia, febre, dor abdominal, vômito, desidratação e perda de peso. Já em pacientes imunodeprimidos a doença pode evoluir para um quadro crônico de diarreia causando desidratação intensa, podendo levar a morte (FRENKEL et al., 2003).

Para o diagnóstico de *Cystoisospora belli*, métodos de coloração permanente, tais como o ácido-resistente (Kinyoun modificado e Ziehl-Nielsen modificado) auxilia na detecção dos oocistos. Em um fundo contrastante azul oocistos fecais ficam tingidos de rosa pálido ao roxo ou não manchada. Sua estrutura interna não é bem visualizada. Esses métodos de coloração são simples, prático e fornecer um registro permanente, além de permitir encontrar outros agentes como *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp. (NEIRA, 2010).

O Ministério da Saúde e o CDC recomendam o tratamento primário para infecção por *Cystoisospora* spp. com Sulfametoxazol (SMX) – trimetopima (TMP) (BRASIL, 2011; CDC, 2013).

2.6 A classificação da infecção pelo HIV em crianças de acordo com parâmetros clínicos, imunológicos e virológicos

É importante relatar que a definição de aids em crianças é diferente e mais complexa que nos adultos, já que recém-nascidos de mães infectadas pelo HIV podem apresentar anticorpos anti-HIV circulantes transferidos da mãe durante a gestação, por via transplacentária e que podem persistir até 18 meses, sem que necessariamente tenham sido infectados (BRASIL, 2013). A classificação da infecção pelo HIV utiliza sistema alfanumérico, baseando-se em parâmetros clínicos e imunológicos, conforme o Quadro 1 e a Tabela 1, segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2011b).

2.6.1 Parâmetros clínicos

Quadro 1- Classificação da infecção pelo HIV em crianças até 13 anos de idade, segundo categorias clínicas.

Alteração Imunológica	N= ausência de sinais e/ou sintomas clínicos	A= sinais e/ou sintomas clínicos leves	B= sinais e/ou sintomas clínicos moderados	C= sinais e/ou sintomas clínicos graves
Ausente (1)	N1	A1	B1	C1
Moderado (2)	N2	A2	B2	C2
Grave (3)	N3	A3	B3	C3

Fonte: Brasil, 2011b.

Categoria N – Assintomática:

Ausência de sinais e/ou sintomas; ou com apenas uma das condições da categoria A.

Categoria A – Sinais e/ou sintomas leves:

Presença de duas ou mais das condições abaixo, porém sem nenhuma das condições das categorias B e C: linfadenopatia (maior que 0,5 cm em mais de 2 cadeias diferentes); hepatomegalia; esplenomegalia; parotidite; e infecções persistentes ou recorrentes de vias aéreas superiores (otite média ou sinusite).

Categoria B – Sinais e/ou sintomas moderados:

Anemia (Hb < 8g/dl), neutropenia ($<1.000/\text{mm}^3$) ou trombocitopenia ($<100.000/\text{mm}^3$), por mais de 30 dias; meningite bacteriana, pneumonia ou sepse; candidíase oral persistindo por mais de dois meses; miocardiopatia; infecção por Citomegalovírus (CMV), antes de um mês de vida; diarreia recorrente ou crônica; hepatite; estomatite pelo vírus do Herpes Simples (HSV) recorrente (mais do que dois episódios/ano); pneumonite ou esofagite por HSV, com início antes de um mês de vida; herpes zoster, com dois episódios ou mais de um dermatomo; pneumonia intersticial linfocítica (LIP); nefropatia; nocardiose; febre persistente (> um mês); toxoplasmose antes de um mês de vida; e varicela disseminada ou complicada.

Categoria C – Sinais e/ou sintomas graves. Crianças com quaisquer das condições abaixo:

Infecções bacterianas graves, múltiplas ou recorrentes (confirmadas por cultura, 2 episódios em intervalo de um ano): sepse, pneumonia, meningite, infecções osteo-articulares, abscessos de órgãos internos; candidíase esofágica ou pulmonar; coccidioidomicose disseminada; criptococose extra-pulmonar; criptosporidíase ou cisticercose com diarreia (> um mês); CMV em locais além do fígado, baço ou linfonodos, a partir de um mês de vida;

encefalopatia pelo HIV (achados que persistem por mais de dois meses), em razão de: a) déficit do desenvolvimento neuropsicomotor; b) evidência de déficit do crescimento cerebral ou microcefalia adquirida identificada por medidas de perímetro cefálico ou atrofia cortical mantida em tomografias computadorizadas ou ressonâncias magnéticas sucessivas de crânio; e c) déficit motor simétrico com dois ou mais dos seguintes achados: paresias, reflexos patológicos ataxia e outros; infecção por HSV, úlceras mucocutâneas com duração maior do que um mês ou pneumonite ou esofagite (crianças >um mês de vida); histoplasmose disseminada; *Mycobacterium tuberculosis* disseminada ou extrapulmonar; *Mycobacterium*, outras espécies ou não identificadas, disseminadas; *Mycobacterium avium* ou *M. kansasii* disseminados; pneumonia por *Pneumocystis carinii*; salmonelose disseminada recorrente; toxoplasmose cerebral com início após o primeiro mês de vida; síndrome da caquexia, manifestada por: a) perda de peso >10% do peso anterior; ou b) queda de dois ou mais percentis nas tabelas de peso para a idade; ou c) peso abaixo do percentil cinco, em duas medidas sucessivas; e d) diarreia crônica (duração maior que 30 dias); ou e) febre por 30 dias ou mais, documentada; leucoencefalopatia multifocal progressiva; sarcoma de Kaposi; e linfoma primário do cérebro e outros linfomas.

2.6.2 Parâmetros imunológicos

Os parâmetros imunológicos são referentes à contagem de linfócitos T CD4, que são células T auxiliares, que apresentam a glicoproteína de membrana CD4. O Quadro 2 se refere às categorias imunológicas da classificação da infecção pelo HIV em crianças até 13 anos de idade.

Tabela 1- Categorias imunológicas da classificação da infecção pelo HIV em crianças até 13 anos de idade.

Alteração imunológica	Contagem de T CD4		
	Idade		
	<12 meses	1 a 5 anos	6 a 12 anos
Ausente (1)	>1500 ($\geq 25\%$)	≥ 1000 ($\geq 25\%$)	≥ 500 ($\geq 25\%$)
Moderada (2)	750-1499 (15-24%)	500-999 (15-24%)	200-499 (15-24%)
Grave (3)	<750 (<15%)	< 500 (<15%)	< 200 (<15%)

Fonte: Brasil, 2011b.

A deterioração imunológica está relacionada com a progressão da doença. A contagem

absoluta de linfócitos T CD4 varia muito nas diferentes faixas etárias, o que não é observado com os valores percentuais. Sabe-se que variações na contagem percentual de linfócitos T CD4 são parâmetros mais estáveis que variações na contagem absoluta para avaliar a progressão da doença em crianças (BRASIL, 2004). Cabe destacar, porém que a interpretação das variações da contagem de células T CD4 deve ser cuidadosa, lembrando que, na criança, pode haver diminuição transitória, mesmo frente a doenças intercorrentes leves e imunizações (BRASIL, 2004).

2.6.3 Parâmetros virológicos

Carga viral refere-se à quantidade de HIV circulante no sangue. Sabe-se, entretanto, que a dinâmica da infecção pelo HIV em crianças que adquiriram o vírus pela transmissão vertical, é diferente da observada no adulto. A criança apresenta viremia primária no início da vida e seu sistema imune é relativamente imaturo. Desse modo, ela pode exibir cargas virais elevadas (maiores que um milhão de cópias/mL), com taxas de declínio mais lentas do que as apresentadas em adultos, sendo difícil definir limites precisos para a progressão da doença. Embora seja conhecido que quanto maior a carga viral, maior o risco de progressão, existe considerável superposição de valores, nos primeiros 30 meses de vida, entre as crianças que evoluirão como progressores rápidos, intermediários e lentos (BRASIL, 2004).

A análise dos dados disponíveis até o momento revela que o acompanhamento clínico de cada paciente, a avaliação imunológica (contagem de células T CD4) e a virológica são fundamentais para avaliar o prognóstico e orientar decisões terapêuticas, especialmente quando são crianças menores de 30 meses de idade. Nas crianças com idade superior a 30 meses, os dados de literatura indicam que níveis de carga viral superior a 100.000 cópias/mL e contagem de T CD4 inferior a 15% são consideradas de risco aumentado para progressão clínica (categoria C) ou morte (BRASIL, 2004).

É importante notar que, em pacientes adultos clinicamente estáveis, variações nos níveis de carga viral de até três vezes (0,5 logaritmo, ou log), no curso de um dia ou em dias diferentes, carecem de relevância clínica. Essa variação biológica, em crianças, pode ser de até cinco vezes (0,7 log) em menores de dois anos de idade e de até três vezes (0,5 log) em maiores de dois anos (BRASIL, 2004).

Na criança com infecção pelo HIV adquirida por transmissão vertical, a carga viral pode declinar lentamente ao longo do tempo, mesmo sem terapêutica antirretroviral. Esse

declínio é mais rápido durante os primeiros 12 a 24 meses de vida, com redução média de 0,6 log por ano e mais lento até quatro a cinco anos de idade, em média de 0,3 log por ano (BRASIL, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a prevalência de parasitas emergentes e reemergentes em crianças que vivem com HIV/aids e os condicionantes socioambientais envolvidos.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a presença de *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp. em amostras fecais de crianças que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP/USP).
- Caracterizar as condições de saneamento, hábitos comportamentais, de higiene e manifestação de diarreia e refletir sobre sua influência na prevalência de *Giardia* sp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp. em crianças que vivem com HIV/aids.
- Analisar a transmissão intradomiciliar de *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. e *Cystoisospora* spp., mediante a análise de matéria fecal de familiares, coabitantes das residências das crianças com HIV/aids.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa de caráter descritivo-exploratório, de corte transversal de abordagem quantitativa (PEREIRA, 2005).

4.2 Aspecto ético

O presente estudo foi apreciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (ANEXO A- Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa- nº 159.935). Após os esclarecimentos, os responsáveis pelas crianças participantes, na presença da pesquisadora, fizeram a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A e APÊNDICE B) e os que concordaram com a participação, assinaram o termo, recebendo uma cópia do mesmo.

Para validação do questionário (APÊNDICE D e E) os juízes receberam o convite para participação na pesquisa e ao concordarem fizeram a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos Especialistas (APÊNDICE C) e assinaram o termo recebendo uma cópia do mesmo.

4.3 Local de estudo

O município de Ribeirão Preto está localizado na região Nordeste do Estado de São Paulo com uma área de 650 km² com uma população de aproximadamente 604.842 habitantes (IBGE, 2011).

O Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) é conhecido como um centro de referência em várias áreas médicas. A Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas (UETDI) é uma unidade altamente especializada que dirige sua atenção a crianças, adolescentes e adultos que vivem com HIV/aids.

O atendimento se dá aos pacientes residentes da cidade de Ribeirão Preto e de outras cidades pertencentes à divisão do Departamento Regional de Saúde XIII de Ribeirão Preto: Altinópolis, Barrinha, Batatais, Brodósqui, Cajuru, Cássia dos Coqueiros, Cravinhos, Dumont, Guariba, Guataporã, Jaboticabal, Jardinópolis, Luís Antônio, Monte Alto, Pitangueiras, Pontal, Pradópolis, Ribeirão Preto, Santa Cruz da Esperança, Santa Rosa de Viterbo, Santo Antônio da Alegria, São Simão, Serra Azul, Serrana, Sertãozinho, no interior do estado de São Paulo.

4.4 Participantes do estudo

4.4.1 Crianças que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP)

Na ala pediátrica da Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas (UETDI) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) são cadastradas 57 crianças de zero a 13 anos que vivem com HIV/aids, sendo estas oriundas principalmente das cidades pertencentes a divisão do Departamento Regional de Saúde XIII de Ribeirão Preto.

Para o recrutamento de crianças que vivem com HIV/aids, foram levados em consideração alguns critérios de inclusão e exclusão na pesquisa, como segue abaixo:

Crítérios de inclusão

- Pacientes com sorologia positiva para o HIV;
- Pacientes com idade de zero até 13 anos;
- Pacientes de ambos os sexos;
- Pacientes que residem na cidade de Ribeirão Preto;
- Pacientes que realizam ou não o tratamento com antirretroviral.

Crítérios de exclusão

- Pacientes que aceitaram a participação na pesquisa, mas não realizaram a coleta das amostras, mesmo depois de estabelecido contato por telefone e pessoalmente.

É importante relatar que a seleção dos pacientes considerados crianças, seguiu a mesma classificação etária do Ministério da Saúde, que estabelece idade de 0 até 13 anos (BRASIL, 2011b). Foram recrutadas apenas as crianças de Ribeirão Preto, em virtude da coleta de amostras, uma vez que é recomendado iniciar as análises de fezes em um período máximo de 24h. O uso de conservantes na coleta realizada em casa, não foi recomendado no presente estudo, pois a mesma amostra foi fracionada seguindo três protocolos diferentes para realização das análises parasitológicas.

Após o estabelecimento desses critérios de inclusão, foram recrutadas 24 crianças (42% do total). No dia de consulta do paciente, a pesquisa foi apresentada ao responsável

legal pela criança, bem como feita a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). Após o primeiro contato, do total de 24 recrutamentos, 21 aceitaram a participação no estudo, assinando o termo e recebendo uma cópia do mesmo. Além disso, responderam o questionário proposto (APÊNDICE D) sendo que algumas informações foram retiradas do prontuário do paciente (APÊNDICE E). No entanto, no decorrer da pesquisa, quatro dos responsáveis pelas crianças desistiram da participação no estudo e não realizaram a coleta, mesmo após o estabelecimento do contato por telefone e/ou pessoalmente, permanecendo 17 crianças que vivem com HIV/aids para a pesquisa de enteroparasitoses. O recrutamento dos participantes ocorreu no período de março a setembro de 2013.

4.4.2 Membros familiares das crianças que vivem com HIV/aids

Participaram também da pesquisa membros familiares das crianças que vivem com HIV/aids. Após os esclarecimentos e a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE B) aceitaram a participação voluntária, 20 familiares de 10 pacientes, sendo levados em consideração alguns critérios de inclusão e exclusão na pesquisa, como segue abaixo:

Critérios de inclusão

- Familiares que residem na mesma casa e que tem contato direto com o paciente;
- Familiares de ambos os sexos;
- Familiares de qualquer idade;
- Familiares com sorologia positiva ou negativa para o HIV;
- Familiares que realizam ou não o tratamento com antirretroviral.

Critérios de exclusão

- Familiares que aceitaram a participação na pesquisa, mas não realizaram a coleta das amostras, mesmo depois de estabelecido contato por telefone e pessoalmente.

Para estes voluntários, só foi proposto a coleta de amostras fecais, não havendo aplicação do questionário. A opção por incluir os membros familiares no estudo, se deve a alta transmissão parasitária entre pessoas que estão em contato constante.

4.5 Validação do questionário

Para a coleta de dados complementares foi elaborado um questionário (APÊNDICE D e APÊNDICE E) em conjunto com pesquisadores do Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental, além de docentes da área de parasitologia básica e imunologia.

Posteriormente foram selecionados cinco especialistas levando em consideração suas diferentes áreas: parasitologia básica, imunologia, parasitologia ambiental e doenças infecciosas com ênfase em HIV/aids. Após aceitarem a participação na pesquisa por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos Especialistas (APÊNDICE C), realizaram uma análise minuciosa do instrumento proposto quanto ao conteúdo, construção das questões, semântica, clareza e aparência, com o propósito de avaliar a relevância dos temas abordados para o estudo proposto.

As sugestões feitas pelos especialistas foram discutidas no grupo de pesquisa do Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental e posteriormente feitas as adaptações. Logo após foi realizado o pré-teste da aplicação do questionário, onde foi possível verificar o entendimento do conteúdo das questões por parte dos participantes da pesquisa.

4.6 Levantamento de dados complementares

Após o processo de validação do questionário por parte dos especialistas, foi realizado o levantamento de dados complementares, realizado em dia de consulta do paciente no HCFMRP-USP, no período de março a setembro de 2013.

O questionário composto pelo APÊNDICE D permitiu a coleta de dados a respeito das crianças que vivem com HIV/aids: informações pessoais, condições sócio-demográficas, hábitos de higiene alimentar e pessoal e manifestação de diarreia. O questionário foi lido e preenchido pela pesquisadora, após a resposta do responsável legal pela criança, o que durou de 10 a 15 minutos.

Outras informações contidas no questionário, como resultados de exames imunológicos, de carga viral e exames já realizados relevantes para a pesquisa, foram recolhidos do prontuário do paciente pela própria pesquisadora (APÊNDICE E).

O levantamento de dados complementares foi realizado para que possamos entender melhor o quadro de parasitoses do paciente bem como relacionar as condições imunológicas e virais com a presença ou não de enteroparasitas.

4.7 Coleta e análise parasitológica de amostras fecais

4.7.1 Coleta de amostras

Cada participante da pesquisa recebeu um Kit com três coletores de fezes com as indicações de como proceder a coleta. A Figura 10 mostra o Kit de coleta de fezes e as instruções de coleta e armazenamento entregue aos participantes da pesquisa.

Figura 10- Kit de coleta de fezes e as instruções de coleta e armazenamento entregue aos participantes da pesquisa. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

As amostras foram coletadas em coletores universais previamente identificados e sem conservantes. Foi indicada a coleta de três amostras de fezes para cada participante, em dias diferentes e alternados a fim de evitar resultados falso-negativos, uma vez que, a produção de cistos, ovos ou larvas não é uniforme ao longo do dia ou do ciclo do parasita (SOUZA; AMOR, 2010).

Entretanto, os participantes do estudo realizaram de duas a três coletas de amostras de fezes cada. A distribuição dos participantes da pesquisa segundo o número de coleta de fezes realizado, em dias diferentes e alternado está representada na Figura 11.

Figura 11- Distribuição dos participantes da pesquisa segundo o número de coleta de fezes realizado em dias diferentes e alternado. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Foram coletadas no total 47 amostras de 17 crianças que vivem com HIV/aids, sendo que quatro das crianças realizaram a coleta de duas amostras de fezes em dias diferentes e alternados, enquanto que 13 crianças coletaram três amostras cada, como indicado. Quanto aos membros familiares, foram coletados no total 57 amostras de 20 membros familiares (somente aceitaram a participação, membros familiares de 10 crianças que vivem com HIV/aids), sendo que três membros realizaram a coleta de duas amostras de fezes, e 17 familiares coletaram três amostras, como foi indicado (Figura 11).

O volume de amostra de cada participante foi representado por 1/3 do volume do coletor, para que houvesse quantidade suficiente para a realização de três análises parasitológicas diferentes.

Após a coleta, a amostra foi imediatamente acondicionada em geladeira (4°C), por um período máximo de 24h até o momento de realização das análises. Cabe destacar que as amostras foram coletadas na residência dos pacientes e buscadas pela pesquisadora, estabelecendo contato de dia e hora com o responsável por telefone. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para realização das diferentes análises.

4.7.2 Análise parasitológica de amostras fecais

É sabido que não existe um único método de análise parasitológica de fezes capaz de diagnosticar, ao mesmo tempo, todas as formas parasitárias. Alguns são métodos mais gerais, permitindo o diagnóstico de vários parasitos intestinais, além de serem de fácil execução e

pouco dispendiosos, por isso, utilizados na rotina da maioria dos laboratórios brasileiros. Contudo, o emprego de técnicas específicas na rotina laboratorial é fundamental, contribuindo dessa forma para a diminuição de resultados falso-negativos, visto que algumas espécies de parasitas só são evidenciadas por técnicas diferenciadas. Um exame isolado em que o resultado é negativo, não deve ser conclusivo (SOUZA; AMOR, 2010). Kashyap et al. (2010) salientam a importância da realização de uma combinação de diferentes procedimentos para diagnóstico de infecções parasitárias a fim de obter um diagnóstico mais preciso a fim de proporcionar ao paciente um tratamento adequado e uma melhor qualidade de vida.

Dessa forma, no presente estudo, optou-se por realizar três análises parasitárias diferentes para o diagnóstico dos participantes, sendo elas:

- Técnica centrífugo-sedimentação e coloração de Ziehl-Nielsen modificada: para detecção e identificação de *Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp., uma vez que a literatura aponta uma alta prevalência para esses parasitas em pacientes com HIV/aids;
- Técnica tradicional de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus®: para diagnóstico de *Giardia* spp. e outros parasitas não coccídeos;
- Teste de ELISA: para confirmação de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp., cabendo destacar que só há Kits comerciais disponíveis no mercado específicos para estes dois parasitas de interesse no estudo.

Assim que as amostras chegaram ao laboratório, foram fracionadas para realização das análises, de acordo com os protocolos estabelecidos. As análises foram realizadas em amostras simples, não compostas.

4.7.2.1 Técnica Centrífugo-sedimentação e coloração de Ziehl-Nielsen modificada para detecção e identificação de Cryptosporidium spp., Cystoisospora spp. e Cyclospora spp. em amostras fecais

Uma fração da amostra foi utilizada para realizar a análise de coccídeos intestinais, representados por *Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp., que só podem ser visualizados por técnicas de coloração específica. O método utilizado no estudo foi o de Ziehl-Nielsen modificado, após centrifugação por formaldeído éter (HENRIKSEN; POHLENZ, 1981; MBAE et al., 2013). Por este método é possível identificar os micro-organismos capazes de resistir ao descolorimento pela mistura álcool-ácido, depois de corados

pela fucsina.

Técnica da Centrífugo-sedimentação pelo formaldeído-éter modificado:

Foi pesado 2 g de fezes em balança digital de precisão, em um tubo cônico de 50 mL. Posteriormente esta quantidade de amostra foi diluída e homogeneizada em 10 mL de formol a 10%. Cada amostra diluída, foi filtrada com gaze dobrada em quatro partes e transferidas para outro tubo cônico de 50 mL. Depois foi submetida a centrifugação a 2500 rpm por 10 min. O sobrenadante foi então desprezado. Em cada tubo cônico foi adicionado e homogeneizado mais 7 ml de formol a 10% e 3 ml de éter. A amostra foi novamente centrifugada 2500 rpm por 10 min e o sobrenadante desprezado. Com auxílio de um palito de churrasco (de madeira), foi retirada uma porção de fezes para confecção do esfregaço no formato de um espiral em uma lâmina. A lâmina foi seca à temperatura ambiente de um dia para o outro. Após a secagem, foi adicionado o fixador metanol sobre todo o esfregaço esperando que a lâmina seque novamente até o próximo passo do procedimento.

Técnica de coloração pelo método de Ziehl-Nielsen modificado a frio:

Um pedaço de papel filtro (cortado conforme tamanho do esfregaço) foi colocado sobre a lâmina contendo material seco e fixado. Sobre o papel foi colocada fucsina fenicada por 15 minutos a fim de cobrir todo o esfregaço. O papel filtro foi retirado e a lâmina lavada com água corrente. Foi adicionada sobre o esfregaço uma solução aquosa de álcool-ácido a 2%, para diferenciação e depois, lavado em água destilada. Uma solução de azul de metileno foi utilizada para contra-corar por 2 minutos. Transcorrido esse período, a lâmina foi lavada com água corrente e colocada para secar a temperatura ambiente. Dessa forma, a lâmina foi submetida a visualização em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 100X utilizando-se óleo de imersão.

Quando corados pelos derivados do Ziehl-Neelsen modificado, os oocistos álcool ácidos resistentes apresentam coloração do rosa ao vermelho, a cor púrpura intenso. A diferenciação dos protozoários se dá pelos tamanhos e formatos dos oocistos como seguem na Figura 12.

Figura 12- Lâmina composta pelos parasitas *Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp. corados pelo método Ziehl-Nielsen modificado.

Fonte: Adaptado de CDC, 2013.

Os oocistos de *Cryptosporidium* spp. medem 4 a 6 µm de diâmetro e dependendo da espécie exibem um formato esférico ou ovalado (USEPA, 2005; PEREIRA, 2009).

Os oocistos de *Cystoisospora* spp. são ovalados e medem de 22 a 33 µm de comprimento por 12 a 15 de largura, possuindo dois esporocistos dentro de cada um (NEVES, 2005; NETO et al., 2008).

Os oocistos do *Cyclospora* spp. medem de 8 a 10 µm de tamanho, quase o dobro das dimensões de *Cryptosporidium* spp., além de ter uma parede mais espessa (NETO et al., 2008).

4.7.2.2 Técnica de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus® para diagnóstico de *Giardia* spp. e outros parasitas não coccídeos

Uma fração da amostra foi selecionada para realização da análise de parasitas clássicos, como *Giardia* spp. e outros parasitas não coccídeos, por meio do método de sedimentação espontânea com a utilização do Kit Coproplus® (NL Comércio Exterior Ltda, São Paulo, Brasil).

O Kit Coproplus® já foi empregado em outros estudos sendo considerado com uma ótima reprodutibilidade frente aos outros métodos tradicionais, apresentando algumas vantagens por ser um sistema fechado, sem contato direto com a amostra e contando com uma metodologia rápida, prática e higiênica (GARCIA; SIMÕES; ALVARENGA, 2006).

Assim, que a amostra chegou ao laboratório, foi transferida uma quantidade de fezes equivalente a uma pá pequena para o coletor Coproplus® com conservante SAF. O frasco foi

fechado, homogeneizado e armazenado a temperatura ambiente por no máximo 30 dias, como indicado pelo fabricante. No dia da análise parasitológica, o frasco foi colocado para sedimentar em bandeja própria, por no mínimo 15 minutos. A Figura 13 mostra o coletor e a bandeja para sedimentação.

Figura 13. Kit Coproplus® (NL Comércio Exterior Ltda, São Paulo, Brasil), para análise de parasitas pelo método de sedimentação espontânea em amostras fecais. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

Transcorrido o tempo, foi pingada uma gota do líquido sedimentado em uma lâmina, adicionado uma gota de lugol e a lâmina foi coberta com uma lamínula. Dessa forma, a lâmina foi submetida a visualização em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 10X e 40X.

4.7.2.3 Confirmação da presença de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. em amostras fecais pelo método de ELISA

O método utilizado para confirmação de parasitas em amostras fecais foi o Teste de ELISA que se baseia na detecção de antígenos, sendo também chamado de ELISA Sanduíche (Figura 14). Cabe destacar, que dos parasitas pesquisados no presente estudo, só há disponibilidade no mercado, de Kits comerciais de ELISA para detecção de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. (CDC, 2013).

No teste de ELISA Sanduíche, o antígeno específico é inicialmente adsorvido no poço.

A amostra contendo o antígeno é adicionada e se liga ao anticorpo presente no poço. Um novo anticorpo ligado a uma enzima é adicionado. Neste caso, a intensidade da reação é proporcional à quantidade de antígeno presente, podendo assim, mensurar até mesmo pequenas quantidades de antígeno. De acordo com o fabricante, o método chega a apresentar 100% de sensibilidade e especificidade (IVD Research,USA).

Figura 14- Procedimento realizado no ELISA Sanduíche

Fonte: Adaptado de AFTER; GOLDSBY; KINDT, 2000.

Foram utilizados os Kits da Medivax, *Cryptosporidium* Stool Antigen Detection Microwell ELISA e *Giardia* Stool Antigen Detection Microwell ELISA (IVD Research, USA), representados na Figura 15.

Figura 15- Kits para detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia* em amostras fecais (Medivax, IVD Research). Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

A amostra fracionada foi congelada em criotubos a -20°C até o dia da análise. Antes

de realizada a análise, a amostra foi descongelada e os reagentes deixados a temperatura ambiente (15 a 25°C) antes do uso. Os Kits para detecção de antígenos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. seguem os mesmos procedimentos.

Foi aberto o número de poços correspondente ao número de amostras analisadas e mais dois poços que foram utilizados para controle (positivo e negativo). Os poços foram colocados no suporte.

Primeiramente foi realizada a diluição da amostra em tubos, utilizando 0,7 mL de tampão de diluição e a quantidade correspondente a uma ervilha pequena da amostra, com o auxílio de um bastão aplicador. A amostra foi homogeneizada.

Utilizando uma micropipeta, foi adicionado 100 µL de controle negativo no poço 1 e 100 µL de controle positivo no poço 2. Foi adicionado 100 µL das amostras em cada poço, como. A Figura 16 apresenta os poços com as amostras diluídas e os controles. A placa foi incubada por 60 minutos a temperatura ambiente (15-25°C).

Figura 16- Teste de ELISA representando as amostras diluídas e os controles nos poços durante o período de incubação. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

Em seguida os poços foram lavados cinco vezes com a solução de lavagem utilizando lavadora de microplaca automática (Modelo: TP-Washer, Thermo Plate, Brasil). As lavagens consistiam em preencher vigorosamente cada poço até a borda e decantar o conteúdo. O processo de lavagem dos poços com lavadora automática está ilustrado na Figura 17.

Figura 17-Teste de ELISA representando o processo de lavagem dos poços com lavadora automática. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

Foi adicionado duas gotas de Conjugado Enzimático em cada poço. As amostras foram incubadas por mais 30 minutos. Transcorrido o período de incubação, os poços foram lavados mais cinco vezes com a Solução de Lavagem. Posteriormente foi adicionado duas gotas de cromógeno em cada poço e foram incubados por mais 10 minutos a temperatura ambiente (15-25°C). Foram adicionadas duas gotas de solução de bloqueio em cada poço e realizada a leitura visual e com um leitor de ELISA, com filtros de 450/620-650 nm (Figura 18).

Figura 18- Teste de ELISA representando diferentes fases, com destaque para leitura visual e em leitora de microplaca. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

O resultado de leitura visual foi considerado positivo quando o poço da amostra se apresentou claramente mais amarelo que o poço do controle negativo. Para confirmação das amostras positivas, foi feito a leitura em Leitora de Microplaca de ELISA (Modelo: TP-Reader, Thermo Plate, Brasil) que expressa os resultados em Absorbância. Aqueles poços que apresentaram leitura maior que 0,08 de absorbância indicou que a amostra continha o antígeno específico para cada teste (*Cryptosporidium* spp. ou *Giardia* spp.).

4.8 Análise dos dados

4.8.1 Estatística descritiva

Os dados obtidos no presente estudo foram compilados em tabelas e gráficos por meio da utilização do Programa Microsoft Excel 2007.

4.9 Devolutiva dos Resultados de Exames Parasitológicos

Cabe destacar que os resultados dos exames parasitológicos foram encaminhados para os responsáveis pelas crianças bem como para equipe médica da ala pediátrica da Unidade

Especial de Terapia de Doenças Infecciosas (UETDI) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) a fim de receber um tratamento adequado para os casos positivos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crianças que vivem com HIV/aids, são mais susceptíveis a diversas infecções do trato gastrointestinal (ROSSIT et al., 2007; BRASIL, 2013). O quadro clínico para esses pacientes está relacionado com a sua condição imunológica e pode se apresentar desde assintomático a uma morbidade de gravidade variada, bem como evoluir para uma diarreia severa prolongada, má absorção, deficiência de crescimento, desnutrição e até mesmo causar a morte. Entre os diferentes patógenos causadores de infecção gastrointestinal, parasitas provavelmente possuem papéis importantes em crianças que vivem com HIV/aids (LEWTHWAITE et al., 2005; IDRIS et al., 2010).

No presente estudo são apresentados os resultados referentes às crianças que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), que incluem: o perfil socioeconômico; os fatores de risco para enteroparasitoses; o perfil clínico, imunológico e virológico das crianças; exames e internações decorrentes de diarreia; e os resultados das análises parasitológicas de amostras fecais. São também discutidas diversas questões que podem ser atribuídas ao quadro de enteroparasitismo bem como formas de tratamento, diagnóstico e complicações decorrentes.

5.1 Perfil socioeconômico das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

A população em estudo foi composta por crianças de quatro a 13 anos incompletos, que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) residentes da cidade de Ribeirão Preto. Aceitaram a participação e permaneceram na pesquisa durante todo o estudo, 17 crianças, sendo nove do sexo feminino (53%) e oito do sexo masculino (47%). A distribuição das crianças do estudo em relação a cor/raça e sexo está representada na Figura 19.

Figura 19- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo cor/raça e sexo. Ribeirão Preto, SP. 2013.

De acordo com a Figura 19, podemos observar que a frequência da cor/raça entre o sexo das crianças participantes do estudo foi uniforme, sendo que nove eram pardas, correspondendo a 52,9% das crianças, seis eram consideradas brancas (35,3%), e duas eram negras (11,8%). As renda familiar mensal das famílias das crianças que vivem com HIV/aids participantes do presente estudo e a classe econômica a qual pertencem são apresentados na Figura 20.

Figura 20- Distribuição das famílias das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a renda familiar mensal e classe econômica. Ribeirão Preto, SP. 2013. O Salário Mínimo que corresponde a R\$ 678,00.

Segundo a Figura 20, podemos verificar que a renda familiar mensal das famílias das crianças que vivem com HIV/aids participantes do presente estudo, era em sua maioria, de 1 a três Salários Mínimo, representando 11 crianças (64,7%). Para as demais famílias, as rendas se distribuíram da seguinte forma: quatro (23,5%) recebiam menos de um Salário Mínimo,

uma (5,9%) recebia entre três e cinco Salários Mínimo e uma (5,9%) entre cinco e sete Salários Mínimo.

O Critério de Classificação Econômica Brasil, é um instrumento de segmentação econômica, proposto pela ABEP (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa), que utiliza o levantamento de características domiciliares (presença e quantidade de alguns itens domiciliares de conforto e grau escolaridade do chefe de família) para diferenciar a população. O critério atribui pontos em função de cada característica domiciliar e realiza a soma destes pontos. É feita então uma correspondência entre faixas de pontuação do critério e estratos de classificação econômica, definidos por A1, A2, B1, B2, C1, C2, D, E, abandonando a pretensão de classificar a população em termos de “classes sociais” (ABEP, 2013) As famílias do presente estudo foram classificadas em B2, C1, C2 e D, correspondendo respectivamente a 17,6%, 41,2%, 35,3% e 5,6% dos participantes (Figura 20).

O tipo de residência das famílias das crianças que vivem com HIV/aids participantes do estudo e a quantidade de pessoas que moram na casa são apresentados na Figura 21.

Figura 21- Distribuição das famílias das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo o tipo de residência e a quantidade de pessoas que moram na casa. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Quanto ao tipo de residência, 13 (76,5%) familiares das crianças declararam possuir casa própria, dois (11,8%) relataram viver de aluguel e dois (11,8) disseram que a casa em que viviam era ganha de ente familiar.

Outro item relevante avaliado foi quanto ao número de pessoas da família que residem na mesma casa. Representantes de sete crianças (41,2%) declararam que vivem em cinco pessoas na mesma casa, de quatro crianças (23,5%) que vivem em quatro na mesma casa, de três crianças (17,6%) que vivem em sete ou mais na mesma casa, de duas crianças (11,8%) que vivem em três e de uma criança (5,9%) que vivem em seis.

5.2 Fatores de risco para enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

A ausência ou insuficiência de condições ideais de saneamento básico, precárias práticas de higiene pessoal e alimentar bem como o contato frequente com pessoas e/ou animais infectados tem se mostrado como fatores de risco para transmissão de parasitas intestinais (LOPES et al., 2010; SILVA et al., 2011; CDC, 2013).

Abaixo são apresentados alguns itens do questionário aplicado (APÊNDICE D) que são referentes a essas questões, para que possamos discutir melhor quanto ao quadro de enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP).

Na Tabela 2 contém a distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP de acordo com as condições de saneamento da residência.

Tabela 2- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP de acordo com as condições de saneamento. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Saneamento	n=17	(%)
Qual a procedência da água na residência		
Rede pública	17	100
Outros	0	-
Qual a água utilizada para consumo		
Torneira	16	94,1
Outros	1	5,9
Tratamento caseiro da água antes do consumo		
Sim	4	25,0
Não	12	75,0
A residência possui rede coletora de esgoto		
Sim	17	100
Não	0	-
Local de eliminação dos dejetos		
Vaso sanitário	17	100
Outros	0	-

De acordo com a Tabela 2, pode ser observado que todas as famílias das crianças que vivem com HIV/aids que participaram do estudo declararam que a água para consumo da residência é proveniente da rede pública. Com relação a água utilizada para beber, 16 relataram consumir água da torneira, sendo que 12 (75,0 %) consomem esta água sem receber qualquer tratamento caseiro, enquanto que quatro (25%) realizam a filtração da água antes do consumo, seja mediante filtro de barro ou filtro acoplado na torneira. Apenas uma família (5,9%) faz a opção pelo consumo de água mineral.

É relevante relatar que 100% das residências dos participantes possuem esgotamento sanitário adequado e vaso sanitário para eliminação dos dejetos. A Figura 22 apresenta a distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP de acordo com o consumo de alimentos crus e modo de higiene dos alimentos realizado na residência pelo responsável.

Figura 22- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo o consumo de alimentos crus e modo de higiene dos alimentos realizado na residência. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Das crianças participantes do estudo, 82,4% tem o costume de comer alimentos crus, especialmente verduras folhosas. No que diz respeito à higiene dos alimentos realizado dentro das residências, 52,9% dos respondentes do questionário disseram que só enxáguam o alimento cru com água, 41,1% disseram que enxáguam com água e solução desinfetante e 5,9% disse realizar a lavagem com água, sabão e bucha. A Figura 23 apresenta a distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP de acordo com as práticas de higienização das mãos.

Figura 23. Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a prática de higienização das mãos. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Segundo a Figura 23 pode ser visto que nove crianças (52,9%) realizam a higiene das mãos antes das refeições, 11 (64,7%) depois de usar o banheiro e 10 (58,8 %) depois de brincar. De acordo com o modo de higienização, os responsáveis pelas crianças relataram que 12 delas (70,5%) costumam lavar as mãos com água e sabão, enquanto que uma (5,9%) só tem o costume de enxaguar com água. Ainda é possível observar que quatro crianças (23,5%) não realizam a lavagem das mãos antes ou depois de nenhuma das atividades mencionadas na Figura 23. Algumas práticas de recreação realizadas pelas crianças participantes do estudo estão apresentadas na Figura 24.

Figura 24. Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo práticas recreativas e local em que nadam. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Referente às práticas recreativas realizadas pelas crianças do presente estudo, é possível observar, por meio da Figura 24 que 11 crianças (64,7%) tem o costume de nadar, cinco (29,4%) brincam em tanques de areia constantemente, e duas (11,8%) em enxurradas eventualmente quando chove. No que diz respeito ao local em que nadam, nove das crianças realizam prática em piscinas, sendo que, seis crianças (35,3%) costumam nadar em piscina de crianças e três (17,6%) em piscina de adultos, e ainda duas crianças (11,8%) nadam em rios. A Tabela 3 apresenta os fatores de risco para enteroparasitoses relacionados ao contato das crianças participantes do estudo com outras crianças e/ou animais.

Tabela 3- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo os fatores de risco relacionados ao contato com outras crianças e/ou animais. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Contato com animais e/ou crianças	n=17	%
A criança tem contato frequente com animais		
Sim	17	100
Não	0	-
Quais animais a criança tem contato frequente		
Só Cachorro	13	46,5
Só Gato	1	5,9
Cachorro e gato	3	17,6
Outros	0	-
A criança frequenta creche ou escola		
Sim	16	94,1
Não	1	5,9
A criança tem contato frequente com outras crianças		
Sim	17	100
Não	0	
Onde a criança tem contato frequente com outras crianças		
Escola/creche	16	94,1
Na rua	12	70,6
Em casa	11	64,7

A Tabela 3 apresenta os fatores de risco para enteroparasitoses relacionados ao contato com outras crianças e/ou animais. Dos 17 responsáveis entrevistados, todos relataram possuir animal de estimação em casa, o qual a criança entra em contato frequente. Entre os animais, 13 famílias (76,5%) só possuem cachorros, uma (5,9%) só possui gato e três (17,6%) possuem cachorro e gato. Quanto a instituições de ensino, 16 crianças (91,1%) frequentam escola ou creche.

É interessante expor que todas as crianças participantes do estudo possuem contato com outras crianças constantemente, seja na escola/creche, na rua e/ou em casa.

5.3 Caracterização clínica das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

A infecção pelo HIV em crianças até 13 anos de idade, segundo categorias clínicas, são dadas de acordo com os sintomas e são classificadas em: Categoria N (Assintomática), Categoria A (Sinais e/ou sintomas leves), Categoria B (Sinais e/ou sintomas moderados), Categoria C (Sinais e/ou sintomas graves). Quanto aos números 1, 2 e 3 que acompanham as letras correspondentes às categorias, dizem respeito a gravidade dos sinais e/ou sintomas: 1- Ausente, 2- Moderada e 3 Grave. É importante relatar, para o presente estudo, que

cryptosporidiose ou cistisporidiose com diarreia (> um mês) são consideradas uma sintomatologia grave associada ao HIV/aids, e que as crianças que apresentam este tipo de infecção são enquadradas, portanto, na Categoria C (BRASIL, 2011b). A distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a caracterização clínica são apresentadas na Figura 25.

Figura 25- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a classificação da infecção pelo HIV. Ribeirão Preto, SP. 2013.

A maior parte das crianças participantes do estudo (52,9%) se enquadram dentro da Categoria C3, sendo que apresentam ou já apresentaram alguma vez na vida, uma manifestação clínica grave relacionada a infecção pelo HIV, cabendo destacar que nenhuma corresponde ou correspondeu a cryptosporidiose ou cistisporidiose. As demais crianças se enquadraram dentro das categorias, B1(17,6%), A3(11,8%), B3(11,8%) e N2 (5,9%).

5.4 Caracterização imunológica e virológica das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

A análise dos dados disponíveis até o momento revela que o acompanhamento clínico de cada paciente, a avaliação imunológica (contagem de células T CD4) e a virológica são fundamentais para avaliar o prognóstico e orientar decisões terapêuticas. Nas crianças com idade superior a 30 meses, os dados de literatura indicam que níveis de carga viral superior a 100.000 cópias/mL e contagem de T CD4 inferior a 15% são consideradas de risco aumentado para progressão clínica (categoria C) ou morte (BRASIL, 2004).

A deterioração imunológica está relacionada com a progressão da doença. A contagem

absoluta de linfócitos T CD4 varia muito nas diferentes faixas etárias, o que não é observado com os valores percentuais. Sabe-se que variações na contagem percentual de linfócitos T CD4 são parâmetros mais estáveis que variações na contagem absoluta para avaliar a progressão da doença em crianças (BRASIL, 2004).

Carga viral refere-se à quantidade de HIV circulante no sangue. Sabe-se, entretanto, que a dinâmica da infecção pelo HIV em crianças que adquiriram o vírus pela transmissão vertical, é diferente da observada no adulto. A criança apresenta viremia primária no início da vida e seu sistema imune é relativamente imaturo. Desse modo, ela pode exibir cargas virais elevadas (maiores que um milhão de cópias/mL), com taxas de declínio mais lentas do que as apresentadas em adultos, sendo difícil definir limites precisos para a progressão da doença.

A Tabela 4 representa os valores dos parâmetros imunológicos e virológicos das crianças que vivem com HIV/aids.

Tabela 4- Distribuição das crianças de que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a contagem de linfócitos T CD4 e a carga viral circulante no sangue. Ribeirão Preto, SP. 2013.

n= 17 (17)	Idade (anos)	Contagem de T CD4 mm³ (%)	Carga Viral cópias/mL (log)
1	11	612 (39%)	674 (2,829)
2	7	2355 (51%)	< 50
3	12	430 (27%)	53 (1,724)
4	12	1391 (42%)	82 (1,914)
5	11	275 (20%)	67884 (4,832)
6	12	1063 (37%)	62 (1,792)
7	3	2413 (38%)	< 50
8	4	1279 (36%)	< 50
9	9	1875 (34%)	251 (2,400)
10	12	383 (23%)	4097 (3,612)
11	7	879 (33%)	52 (1,716)
12	9	1376 (41%)	< 50
13	11	543 (19%)	36833 (4,566)
14	12	664 (21%)	< 50
15	6	506 (26%)	14605 (4,165)
16	8	724 (20%)	< 50
17	12	873 (27%)	< 50

< 50 cópias/ml, possuem um log abaixo do limite de detecção.

Cabe destacar, portanto, que os resultados desses exames foram retirados do

prontuário dos pacientes em uma data próxima a da realização nas análises parasitológicas. De acordo com a Tabela 4, pode-se observar que nenhuma das crianças do presente estudo indicaram níveis de carga viral superior a 100.000 cópias/mL e contagem de T CD4 inferior a 15%, o que poderia representar um risco aumentado para infecções por parasitas bem como para progressão clínica da doença ou morte.

Cargas virais elevadas, especialmente em pacientes que possuem uma resposta imunológica considerada de moderada a boa (T CD4 > 15%) inferem a administração incorreta dos antirretrovirais pelo paciente, sendo que eles alegam dificuldades para tomar o medicamento, como consta no prontuário. Em contrapartida, taxas de T CD4 menores, principalmente em pacientes que possuem carga viral baixa, podem indicar alterações qualitativas ou quantitativas dos linfócitos, representados pela capacidade funcional das células bem como pela perda gradual em seu número.

5.5 Dados referentes a exames e internações das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

Os dados referentes a exames e internações das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP foram retirados dos prontuários dos pacientes. A Figura 26 exibe a distribuição das crianças participantes do estudo segundo a realização de exame parasitológico de fezes e o tipo de diagnóstico que constam no prontuário.

Figura 26- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP segundo a realização de exame parasitológico de fezes e o tipo de diagnóstico que constam no prontuário. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Das informações constantes nos prontuários das crianças que vivem com HIV/aids participantes do estudo, 11 crianças (64,7%) já realizaram exames parasitológicos de fezes e para seis crianças (35,3%) não contam nenhum exame. No que diz respeito ao tipo de método

empregado, do total de 17, 11 crianças (64,7%) já realizaram, ao menos uma vez, exames para diagnóstico de parasitas clássicos, por meio do teste de Faust e Hoffman Modificado. O teste para parasitas específicos, como *Cryptosporidium* spp. e *Cystoisospora* spp. só foi realizado em 3 crianças (17,6%), quando estas estavam internadas. Quanto aos resultados, em três pacientes já foi relatado a presença de *Giardia* spp., sendo que em dois casos, ocorreu internação em decorrência da infecção parasitária. O número de internações decorrente de diarreia e as respectivas causas estão representados na Figura 27.

Figura 27- Distribuição dos pacientes que vivem com HIV/aids atendidos no HCFMRP-USP segundo número e causas de internações devido a diarreia. Ribeirão Preto, SP. 2013.

De acordo com a Figura 27, é possível observar que houve sete crianças que vivem com HIV/aids participantes do estudo (41,2%) que já foram internadas ao menos uma vez, decorrente de diarreia. Cabe destacar que em todos os casos de internação foi realizado o diagnóstico de parasitas clássicos por meio do teste de Faust e de Sedimentação Espontânea e em apenas três casos consta exames para parasitas específicos, como *Cryptosporidium* spp. e *Cystoisospora* spp., que são considerados agentes oportunistas. Quanto aos resultados dos testes, em apenas dois pacientes que foram internados por diarreia (28,6%) foi relatada infecção parasitária, caracterizada por *Giardia* spp. (Figura 27).

5.6 Presença de parasitas em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

Diversos estudos relatam a presença de parasitas, oportunistas ou não, em indivíduos que vivem com HIV/aids. Entretanto, há poucos relatos na literatura de patógenos entéricos em crianças soropositivas (ROSSIT et al., 2007).

As infecções oportunistas são caracterizadas por serem mais frequentes ou mais severas em pessoas infectadas por HIV devido a imunossupressão, especialmente àquelas com

índices de T CD4 < 25%. Dentre os micro-organismos patogênicos considerados oportunistas, são mais comumente relatados em países em desenvolvimento, os coccídeos intestinais: *Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp (AGHOLI; HATAM; MOTAZEDIAN,2013). Entre os patógenos clássicos, merecem destaque: *Giardia* spp., *Entamoeba histolytica*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis* e ancilostomídeos (KOTGIRE et al, 2011).

Na Tabela 5 são relatados os parasitas encontrados em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), segundo o idade e sexo.

Os parasitas apresentados são resultados de três métodos de análise diferentes realizados em 47 amostras de 17 crianças (o que correspondeu a coleta de duas ou três amostras de cada indivíduo participante do estudo). A idade das crianças participantes do estudo foi de três a 13 anos incompletos, sendo que nove crianças eram do sexo feminino e oito do sexo masculino. Todas as crianças participantes faziam o uso de terapia antirretroviral. No momento da coleta, nenhuma criança relatou fezes diarreicas.

Tabela 5- Parasitas encontrados em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo idade e sexo. Ribeirão Preto, SP. 2013.

n (17)	Idade	Sexo	Parasitas
1	11	F	Ausente
2	7	F	Ausente
3	12	F	Ausente
4	12	F	<i>Cyclospora</i> spp., <i>Giardia</i> spp.,
5	11	F	Ausente
6	12	F	<i>Giardia</i> spp.
7	3	M	<i>Entamoeba coli</i>
8	4	M	<i>Giardia</i> spp.
9	9	F	<i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Giardia</i> spp., <i>Entamoeba coli</i>
10	12	M	<i>Entamoeba coli</i>
11	7	M	<i>Entamoeba coli</i>
12	9	M	<i>Entamoeba coli</i>
13	11	F	<i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Giardia</i> spp., <i>Entamoeba coli</i>
14	12	M	<i>Cryptosporidium</i> spp.
15	6	M	<i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Giardia</i> spp.
16	8	M	<i>Entamoeba coli</i>
17	12	F	<i>Entamoeba coli</i>

F: feminino; M: masculino

No presente estudo, foi levado em consideração os parasitas comensais e os parasitas enteropatógenos. Entre as 17 crianças analisadas, 13 (76,5%) apresentaram ao menos um parasita intestinal, sendo que a maioria encontraram monoparasitadas (52,9%), duas (11,8%) se biparasitadas e duas (11,8%) poliparasitadas.

A presença de parasitas foi mais frequente em crianças do sexo masculino (100%) do que em pacientes do sexo feminino (55,5%). A Tabela 6 exibe a prevalência de parasitas em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo o agente etiológico e o sexo.

Tabela 6- Prevalência de parasitas intestinais em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo o agente etiológico. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Agente etiológico	n=17	%
Parasitas patogênicos (re) emergentes		
<i>Giardia</i> spp.	6	35,3
<i>Cryptosporidium</i> spp.	4	23,5
<i>Cyclospora</i> spp.	1	5,9
Parasita comensal		
<i>Entamoeba coli</i>	8	47,1

Em todo o estudo, foram encontrados quatro parasitas diferentes em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP. De acordo com a Tabela 5, é possível observar que sete crianças (41,2%) estiveram parasitadas por pelo menos um agente etiológico potencialmente patogênico, representado por *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp., e que seis crianças (35,2%) apresentaram somente parasitas comensais, representados pela *Entamoeba coli*.

A prevalência parasitária foi maior para *Entamoeba coli* encontrada em oito crianças (47%), seguido por *Giardia* spp., encontrada em seis crianças (35,3%). Entre os parasitas coccídeos pesquisados no presente estudo, o *Cryptosporidium* spp. teve uma prevalência de 23,5% (quatro crianças) e o *Cyclospora* spp. de 1,7% (uma criança). O *Cystoisospora* spp. não foi encontrado em nenhuma das amostras analisadas.

5.7 Parasitas patogênicos emergentes e reemergentes em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

5.7.1 *Giardia* spp. em crianças que vivem com HIV/aids

De acordo com as Tabelas 5 e 6, *Giardia* spp. foi o parasita reemergente potencialmente patogênico mais encontrado nos pacientes em estudo, com uma prevalência de 35,3%. É importante observar que das sete crianças (41,2%) que estiveram parasitadas por pelo menos um agente etiológico considerado patogênico, seis (35,3%) tiveram *Giardia* spp., associada ou não a outros parasitas, como mostra a Tabela 7.

Tabela 7- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo coinfeção associada a *Giardia* spp. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Coinfecção	n=6
<i>Giardia</i> spp.	2
<i>Giardia</i> spp. e <i>Cyclospora</i> spp.	1
<i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.	1
<i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>Entamoeba coli</i>	2

Como pode ser observado, em duas crianças participantes do estudo (11,8%), *Giardia* spp. apareceu como único parasita e em um paciente (5,9%) apareceu em associação com *Cyclospora* spp. É relevante notar que em três crianças (23,5%), *Giardia* spp. apareceu juntamente com *Cryptosporidium* spp., sendo que em um dos casos ainda houve a *Entamoeba coli* como parasita.

A Figura 28 ilustra lâminas com cistos de *Giardia* spp. visualizadas em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 40X, preparadas pelo método de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus® e coradas com lugol.

Figura 28- Lâminas com cistos de *Giardia* spp. visualizadas em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 40X, preparadas pelo método de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus® e coradas com lugol. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto, SP. 2013.

No que diz respeito ao diagnóstico realizado para pesquisa de cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais, vários autores e laboratórios de rotina fazem a opção pelo método de Faust ou pelo Método de Sedimentação Espontânea, que proporciona a análise de vários parasitas intestinais concomitantemente (BRASIL, 2010). No presente estudo foi realizado o método de Sedimentação Espontânea por meio do Kit Coproplus®. Este método foi escolhido por sua ótima reprodutibilidade já testada por outros autores bem como pela minimização do tempo de análise e do contato com a amostra (GARCIA; SIMÕES; ALVARENGA, 2006).

É sabido que devido ao ciclo e vida do parasita, os cistos de *Giardia* spp. podem ser excretados nas fezes de forma intermitente, o que acaba por dificultar o diagnóstico da sua presença. Assim, o CDC (2013) recomenda a utilização de imunoenaios para confirmação da presença do parasita nas fezes, uma vez que se tratam de testes mais sensíveis e específicos. Baseado nesta informação, foi utilizado no presente estudo, o Método de Imunoensaio Enzimático (ELISA) para detecção de antígenos de *Giardia* spp. a fim de confirmar a presença do parasita e dar um diagnóstico mais preciso.

Além disso, devido a variabilidade na concentração de cistos nas fezes, estudos apontam a necessidade da coleta de três amostras em dias alternados a fim de aumentar a sensibilidade do teste e evitar resultados falso-negativos (SOUZA; AMOR, 2010). Dessa forma, no presente estudo, essas informações foram passadas aos responsáveis pelas crianças, sendo que 76,5% dos pacientes realizaram a coleta como foi proposta e 23,5% realizaram a coleta de duas amostras.

Infecções parasitárias causadas por *Giardia* spp. são as mais frequentes em todo o mundo (ANKARKLEV et al., 2010). Há uma estimativa de que existe 280 milhões de casos humanos de giardíase sintomáticos por ano, o que levou a sua inclusão como parte da Iniciativa de Doenças Negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde desde 2004 (ANKARKLEV et al., 2010). Dentre as manifestações clínicas, o quadro pode variar desde assintomático a uma diarreia crônica capaz de levar à complicações severas, especialmente em crianças. Neste contexto, é importante relatar que no presente estudo, consta nos prontuários das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, que entre os sete casos de internações já ocorridas decorrentes de diarreia, dois foram atribuídos ao parasita intestinal *Giardia* spp., alertando-nos para a gravidade do problema e a importância do diagnóstico precoce.

A maioria das pessoas infectadas pelo parasita são assintomáticas (BRASIL, 2010). A estimativa é que até 40% da população do estado de São Paulo seja portadora deste protozoário, embora frequentemente sem sintomas aparentes (CINERMAM et al. 1999;

ROSSIT et al., 2007). Esse dado vem ao encontro dos resultados obtidos no presente estudo, uma vez que, nenhuma das crianças participantes apresentou diarreia e/ou qualquer outra sintomatologia associada a giardíase, embora se tenha observado uma alta prevalência para a parasitose (35,3%).

É sabido que um indivíduo infectado por *Giardia* spp., pode eliminar diariamente em suas fezes de 1 a 10 bilhões de cistos potencialmente infecciosos capaz de contaminar o ambiente em que vive bem como outras pessoas que estão em contato (CDC, 2013). Dessa forma, exames rotineiros para pesquisa do parasita torna-se relevante. No presente trabalho, das 17 crianças participantes, apenas 11 (64,7%) já realizaram exames coproparasitológicos para diagnóstico de parasitas clássicos, como *Giardia* spp. No que diz respeito aos resultados, três dos 11 pacientes (27,3%) já foram diagnosticados com giardíase ao menos uma vez até o ano de 2012, como consta nos prontuários. Desta forma, este estudo aponta um aumento desta prevalência para 35,3%, ou apenas indica que houve uma subestimação dos casos positivos por não terem sido realizados exames de rotina em todas as crianças.

Para um tratamento eficiente em indivíduos que apresentam infecções causadas por *Giardia* spp. é indicado o uso de medicamentos como, Metronidazol, Tinidazol, Nitazoxanida ou Secnidazo, sendo que o Metronidazol e a Nitazoxanida são indicados para pessoas que vivem com HIV/aids (CIMERMAN; CIMERMAN, 1996; CIMERMAN, CIMERMAN; LEWI, 1999; ABOUD et al., 2001; BRASIL, 2010; CDC, 2013).

A prevalência de *Giardia* spp. pode variar de acordo com a região e a população em estudo.

Existem relatos de que pessoas que vivem com HIV/aids são mais susceptíveis à infecção por *Giardia* spp. além de apresentar um agravamento da condição clínica quando há uma supressão do sistema imunológico (DIB; LU; WEN, 2008). Em um estudo conduzido na Nigéria, Sanyaolu et al. (2011) encontrou uma prevalência significativamente maior de *Giardia* spp. em pacientes que vivem com HIV/aids do que em pessoas soronegativas. Entretanto, essa diferença não foi encontrada por Nkenfou, Nana e Payne (2013) na província de Camarões.

Rossit et al. (2007) realizou uma pesquisa de enteroparasitas em crianças de um a 13 anos que vivem com HIV/aids atendidas em um Hospital em São Jose do Rio Preto, SP. Dentre os patógenos pesquisados, *Giardia* spp. apresentou uma prevalência de 9% em pacientes sem diarreia. No mesmo contexto, Barret et al. (2008) realizaram análise de amostras fecais de crianças até 13 anos que vivem com HIV/aids moradoras de duas instituições infantis na Jamaica e encontraram uma prevalência de 12,2% para *Giardia* spp.

Nas duas pesquisas mencionadas, os valores encontrados para *Giardia* spp. apresentaram resultados abaixo do que foi encontrado no presente estudo (35,3%), sendo que os autores revelaram considerar uma prevalência abaixo do esperado.

Adultos que vivem com HIV/aids e que fazem o uso de Terapia Antirretroviral apresentaram prevalência mais baixa para *Giardia* spp. do que os valores encontrados no presente estudo, em São José do Rio Preto, Brasil (3,5%) e em Harar, Etiópia (8,5%) (CARDOSO et al., 2011; TEKLEMARIAM et al., 2013). Na mesma perspectiva, em um estudo realizado por Cimerman et al. (2002), a presença de *Giardia* spp. foi mais comum em crianças com HIV/aids do que em adultos com HIV/aids.

Em contrapartida, valores mais altos do que os obtidos no presente estudo para prevalência de *Giardia* spp. (51,8%) foram encontrados por Santos et al. (2012) em crianças imunocompetentes que frequentavam instituições na cidade de Araguari, MG, Brasil.

5.7.2 *Cryptosporidium* spp. em crianças que vivem com HIV/aids

De acordo com a Tabela 6, entre os patógenos pesquisados, o *Cryptosporidium* spp. teve uma prevalência de 23,5% (quatro crianças), associado ou não a outro parasita, como mostra a Tabela 8.

Tabela 8- Distribuição das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, segundo coinfeção associada ao *Cryptosporidium* spp. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Coinfeção	n=4
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1
<i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>Giardia</i> spp.	1
<i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Giardia</i> spp. e <i>Entamoeba coli</i>	2

Como pode ser observado na Tabela 8, o *Cryptosporidium* spp. apareceu como único parasita em uma das crianças participantes do estudo, enquanto que nas outras três esteve em associação com *Giardia* spp. e em um dos casos também com *E. coli*. A Figura 29 mostra os oocistos de *Cryptosporidium* spp. encontrados no presente estudo pelo método de coloração de Ziehl-Nielsen modificado visualizado em microscópio óptico com aumento de 100X.

Figura 29- Oocistos de *Cryptosporidium* spp. visualizados pelo método de coloração de Ziehl-Nielsen modificado em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 100X. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Por este método é possível observar os oocistos de *Cryptosporidium* spp. que apresentam coloração do rosa ao vermelho, a púrpura intenso. Seus tamanhos variam 4,0 a 6,0 µm de diâmetro e dependendo da espécie exibem um formato esférico ou ovalado que só podem ser diferenciadas por técnicas moleculares (USEPA, 2005; PEREIRA, 2009).

O CDC (2013), relata que a detecção de *Cryptosporidium* spp. pode ser difícil, o que justifica a necessidade de mais de uma amostra para cada paciente, além da utilização de diferentes métodos para o fechamento do diagnóstico. Dessa forma, no presente estudo foi indicada a coleta de três amostras de fezes, em dias alternados, sendo que 76,5% dos pacientes realizaram a coleta como foi proposto e 23,5% realizaram a coleta de duas amostras. Além disso, foram realizados dois métodos de análise diferentes para a pesquisa deste coccídeo, o método de Ziehl-Nielsen modificado e o de método de ELISA para detecção do antígeno do parasita.

De acordo com Pereira et al. (2009) a cryptosporidiose em hospedeiros humanos pode se dar de quatro maneiras, dependendo da condição imunológica do indivíduo, sendo elas: assintomática, aguda, crônica ou fulminante (intensa e rápida). Neste contexto, estudos ao redor do mundo vêm mostrando que o *Cryptosporidium* spp. pode estar presente em pacientes pediátricos que vivem com HIV/aids, que apresentam sintomas ou não recorrentes da infecção (ROSSIT et al., 2007; BORBONI et al., 2008; PEREIRA et al., 2009; BASAVARAJ et al., 2012).

Borboni et al. (2008) avaliaram a incidência cryptosporidiose em crianças de 18 meses a 14 anos de idade que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital Pedro Elizalde, na Argentina. Durante um período de seis anos, 13,7% das crianças apresentaram diarreia

crônica decorrente da infecção por *Cryptosporidium* spp., sendo que esses pacientes se encontravam em condições de imunossupressão. Em contrapartida, Rossit et al. (2007) encontraram uma prevalência de 56% de *Cryptosporidium* spp. em fezes não diarreicas de crianças que vivem com HIV/aids, atendidas no Hospital da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Brasil, sendo que estas se encontravam em uma melhor condição imunológica.

Em todas as crianças do presente estudo que apresentaram *Cryptosporidium* spp., que é considerado um parasita oportunista, o quadro clínico foi característico de uma infecção assintomática, o que pode ser justificado pela condição imunológica, uma vez que todas se encontravam com índices de T CD4 maior ou igual a 19%, o que não chega a representar uma gravidade de supressão.

Embora esses pacientes não apresentassem sintomas característicos da infecção, os resultados mostraram que eles são portadores do *Cryptosporidium* spp. Pessoas que vivem com HIV/aids, que são portadoras do parasita, devem ser constantemente monitoradas quanto ao quadro imunológico, além de fazer o uso correto da terapia antirretroviral, que tende a melhorar o estado imunitário bem como diminuir ou eliminar os sintomas da cryptosporidiose.

É sabido, porém, que mesmo sem manifestações clínicas aparentes, a parasitose, muitas vezes, não tem cura e os sintomas podem (re)aparecer com a piora do estado imunológico do indivíduo (LEITCH; HE, 2012; CDC, 2013).

A *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou para o tratamento da cryptosporidiose em pessoas com sistemas imunitários saudáveis foi a Nitazoxanida. Quanto à eficácia deste medicamento, as taxas de cura clínica (sintomas) variam de 72-88 %, enquanto que a cura parasitológica (sem *Cryptosporidium* spp. detectado nas fezes) variam de 60-75%. No entanto, cabe destacar que a eficácia deste medicamento em indivíduos imunodeprimidos ainda não é clara (CDC, 2013).

Além da Nitazoxanina, estudos em pacientes com HIV/aids, apontam a melhora do quadro clínico e a diminuição do número de oocistos eliminados nas fezes por meio de medicamentos como a Sinefungina, a Azitromicina, a Roxitromicina, e a Paromomicina, embora não se tenha observado a erradicação completa do parasita (LEITCH; HE, 2012). O Ministério da Saúde recomenda terapia com imunoglobulina hiperimune associada com Zidovudine para pacientes que vivem com HIV/aids (BRASIL, 2010).

Dessa forma, torna-se extremamente relevante a inclusão do diagnóstico rotineiro para *Cryptosporidium* spp. em pessoas que vivem com HIV/aids, para que seja possível por meio

da administração precoce de medicamentos, minimizar, do ponto de vista clínico, o impacto da infecção e assim melhorar a qualidade de vida de tais pacientes. É importante relatar, que das crianças participantes do estudo, consta nos prontuários que somente três (17,6%) realizaram exames parasitológico de fezes específicos para detecção de *Cryptosporidium* spp., em virtude da internação decorrente de diarreia. Em todos os casos, o resultado foi negativo para este patógeno.

No presente estudo, a prevalência de *Cryptosporidium* spp. (23,5%) foi maior que as encontradas por outros autores em crianças imunocompetentes que frequentavam instituições no Brasil (10,0%) e na Espanha (15,5%) (RODRIQUEZ-HERNANDEZ; CANUT-BLASCO; MARTIN-SANCHEZ, 1996; MASCARINI; DONALISIO, 2006).

Em contrapartida, o resultado encontrado nesta pesquisa para *Cryptosporidium* spp., esteve abaixo do valor de 56% evidenciado por Rossit et al. (2007) em fezes não diarreicas de crianças que vivem com HIV/aids, atendidas no Hospital da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Brasil.

É importante relatar que estudos realizados em diferentes regiões do mundo apontam uma prevalência mais baixa para cryptosporidiose em adultos que vivem com HIV/aids do que em crianças que vivem nas mesmas condições (ROSSIT et al., 2007). Trabalhos realizados com adultos imunodeprimidos mostram uma prevalência de 8,6%, 5,4% e 1,5%, no Brasil, na África e no Irã respectivamente, o que reflete resultados menores do que os encontrados neste estudo (ZALI et al, 2004; OLIVEIRA-SILVA et al., 2007; WUMBA et al, 2012), corroborando com a afirmação de Rossit et al. (2007).

A diferença da prevalência de *Cryptosporidium* spp. entre crianças e adultos permite inferir que existe uma influência da idade relacionada a distribuição do patógeno, que pode ser determinada por diversos fatores, sendo eles intrínsecos ou extrínsecos ao indivíduo, como por exemplo, a resposta imune, o estilo de vida, os hábitos de higiene, a vivência em instituições, entre outros (ROSSIT et al., 2007; CDC, 2013).

5.7.3 *Cyclospora* spp. em crianças que vivem com HIV/aids

A Tabela 6 mostra que a prevalência de *Cyclospora* spp. foi de 5,9%, correspondendo a uma criança que vive com HIV/aids, sendo que o parasita estava associado a *Giardia* spp.

A Figura 30 ilustra oocistos de *Cyclospora* spp. encontrados no estudo pelo método de coloração de Ziehl-Nielsen modificado em microscópio óptico com aumento de 100X.

Figura 30- Oocistos de *Cyclospora* spp. visualizados pelo método de coloração de Ziehl-Nielsen modificado em microscópio óptico (Modelo: Scope Vision, Carl Zeiss, Alemanha) com aumento de 100X. Foto: Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental. EERP-USP. Ribeirão Preto, SP. 2013.

Por este método é possível observar os oocistos de *Cyclospora* spp., que apresentam coloração do rosa ao vermelho, a púrpura intenso podendo também corar em azul ou até mesmo aparecer descorados. Os oocistos são esféricos e, quase o dobro das dimensões de *Cryptosporidium* spp, além de ter uma parede mais espessa (NETO et al., 2008; ORTEGA; SANCHEZ, 2010).

Cabe destacar que embora o método de Ziehl-Nielsen seja de fácil execução, o diagnóstico para *Cyclospora* spp. geralmente é difícil. Isso porque mesmo as pessoas que são sintomáticas podem não lançar oocistos suficiente em suas fezes para ser detectável por exames laboratoriais. Dessa forma, assim como a pesquisa de outros parasitas, os pacientes precisam apresentar mais de uma amostra de fezes coletadas em dias alternados para aumentar a sensibilidade do teste (LEGUA; SEAS, 2013; CDC, 2013), como foi realizado no presente estudo.

O CDC (2013) relata que é indicado testes de imunofluorescência e/ou Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) a fim de confirmar a presença de *Cyclospora* spp. Imunoensaios Enzimáticos para pesquisa de antígenos do parasita (ELISA) ainda não estão disponíveis no mercado. Durante a realização deste trabalho, só foi realizado o método de Ziehl-Nielsen modificado para pesquisa de *Cyclospora* spp., sendo que não foi possível a realização de testes adicionais. Exames que verifiquem a presença de *Cyclospora* spp. não são realizados rotineiramente em laboratórios clínicos, motivo pelo qual sua prevalência pode estar sendo subnotificada.

De acordo com o CDC (2013) os profissionais de saúde devem considerar *Cyclospora* spp. como uma potencial doença diarreica, especialmente em pessoas com o sistema

imunológico suprimido, exigindo exames específicos para seu diagnóstico, juntamente com outros coccídeos intestinais. Dentre as crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, não há relatos de que já foi realizado exames coproparasitológicos para a pesquisa de *Cyclospora* spp., nem mesmo quando estas foram internadas em decorrência de diarreia, que é considerado o principal sintoma da parasitose.

Além disso, há poucos trabalhos na literatura que abordem a presença de *Cyclospora* spp., tanto em indivíduos imunocompetentes quanto imunodeprimidos.

O quadro clínico para infecção por *Cyclospora* spp. pode variar de acordo com a idade e o estado do sistema imunológico do indivíduo. Pessoas imunocompetentes e/ou pacientes que vivem com HIV/aids que estão com índices de T CD4 > 25%, ou seja, sem complicações imunológicas, podem não apresentar sintomas característicos da infecção ou apresentar sintomas leves com uma diarreia autolimitada. Em contrapartida crianças, idosos e pacientes com o sistema imunológico suprimido, comumente apresentam uma sintomatologia mais severa, com quadros de desidratação. Quando não é realizado um tratamento adequado, após uma recaída do sistema imunológico, o indivíduo pode vir a ter uma recidiva e o quadro se agravar (ORTEGA; SANCHEZ, 2010; CDC, 2013). Dessa forma, o diagnóstico precoce, o acompanhamento do quadro imunológico do paciente por um profissional da área médica e a administração correta de medicamentos é de suma importância.

Para o tratamento de cyclosporidiose é indicado o uso de Trimetoprim/Sulfametozol como único medicamento eficaz com resposta de cura clínica e parasitária para adultos, crianças e pessoas que vivem com HIV/aids (ORTEGA; SANCHEZ, 2010; CDC, 2013).

A literatura nacional e internacional aponta uma baixa prevalência para *Cyclospora* spp. em diferentes tipos de populações, indo ao encontro dos resultados obtidos no presente estudo para crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP.

Sherchan et al. (2010) realizaram análises parasitárias de amostras fecais em diferentes áreas do Nepal e encontraram uma prevalência de 7,9% de *Cyclospora* spp., sendo que a maioria das pessoas parasitadas eram crianças com idade entre 2 e 9 anos que apresentaram ou não diarreia. Ainda no estudo, *Giardia* spp. foi o parasita que mais foi encontrado associado a *Cyclospora* spp.

Agholi et al. (2013) realizaram uma pesquisa de parasitas oportunistas em pessoas que vivem com HIV/aids e encontraram *Cyclospora* spp. em apenas um paciente que apresentava índices de T CD4 < 15%.

Barret et al. (2008) pesquisaram parasitas coccídeos oportunistas em crianças que vivem com HIV/aids na Jamaica e não encontraram *Cyclospora* spp. em nenhuma das amostras analisadas.

No mesmo contexto, Andrade et al. (2008) pesquisaram parasitas em amostras fecais de crianças de 0 a 6 anos de idade, de um Centro de Educação Infantil Público de Blumenau (SC), Brasil, e encontraram uma prevalência de 1,9% de *Cyclospora* spp.

5.8 Parasitas comensais em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP

5.8.1 Entamoeba coli em crianças que vivem com HIV/aids

Na pesquisa de parasitas comensais, o único encontrado foi *Entamoeba coli* com uma prevalência de 47% (oito crianças). Sua pesquisa em fezes humanas pode ser realizada por métodos tradicionais utilizados para o diagnóstico de outros parasitas. No presente estudo, foi possível observar sua presença pelo método de sedimentação espontânea por meio do Kit Coproplus®. No prontuário, em nenhum dos exames já realizados pelas crianças que vivem com HIV/aids consta cistos de *Entamoeba coli*.

Embora não seja considerado patogênico para hospedeiros humanos e animais, a *E. coli* é um indicador da presença de outros parasitas no ambiente, especialmente quando se considera um protozoário de fácil transmissão, como a *Giardia* spp. Dessa forma, é importante relatar nos exames quando aparecem cistos de *E. coli*, uma vez que, a sua presença infere a contaminação fecal do alimento, da água e do ambiente, práticas de higiene inadequadas, bem como outros fatores de risco, por possuir o mesmo mecanismo de transmissão de protozoários patogênicos (REIS; CARNEIRO, 2007; BARRETT et al., 2008; LOPES et al., 2010; SILVA et al., 2011).

A seguir serão apresentados os fatores de risco mais relevantes para parasitoses entéricas que as crianças participantes do estudo estiveram expostas.

5.9. Condicionantes socioambientais que influenciam as enteroparasitoses em crianças que vivem com HIV/aids

As parasitoses intestinais ocupam altos índices de prevalência mundial e representam sérios problemas de saúde pública, especialmente para pessoas com o sistema imunológico

menos competitivo.

Como já mencionado, os parasitas encontrados nas crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP participantes do estudo foram: *Giardia* spp. (35,3%), *Cryptosporidium* spp. (23,5%) e *Cyclospora* spp. (5,9%), considerados agentes etiológicos potencialmente patogênicos; e *Entamoeba coli* (47,1%) considerado um agente etiológico comensal.

A maioria das crianças avaliadas tem e/ou já tiveram uma caracterização clínica para HIV classificada como C3, o que representa que em algum momento da vida, sua carga viral esteve elevada e sua condição imunológica comprometida, o que pode favorecer a infecção por parasitas oportunistas, como *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp. No entanto, no presente estudo, não é possível estabelecer uma relação direta da condição imunológica do indivíduo com o quadro de enteroparasitismo, pois devido inexistência de cura parasitária para o *Cryptosporidium* spp. e a carência de exames específicos para infecção, tanto para *Cryptosporidium* spp. quanto para *Cyclospora* spp. não se sabe se a condição imunológica da criança estava comprometida na época em que as crianças adquiriram tais parasitas.

Independente das características clínicas, imunológicas e virológicas das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, é importante relatar que os parasitas encontrados no presente estudo possuem as mesmas rotas de transmissão. *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. e *Entamoeba coli*, são parasitas de origem entérica, animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos diretamente na água ou em alimentos contaminados por água bem como por contato interpessoal ou com animais infectados (GRABOW, 1996; NETO et al., 2008; HARAMOTO; YAMADA; NISHIDA, 2011).

Dessa forma, torna-se evidente que a frequência de protozoários parasitas nas populações sofre influência de fatores relacionados ao baixo status econômico e à exposição ambiental, como a disponibilidade de água potável, saneamento, práticas de higiene pessoal e alimentar bem como aos hábitos comportamentais (LEITCH; HE, 2012). Neste contexto, foi elaborado um esquema de Ecomapa proposto no Modelo Calgary (FRAGUÁS et al., 2011), reformulado para o conjunto das crianças participantes do estudo e suas famílias visando uma melhor visualização dos condicionantes socioambientais das infecções parasitárias, construído de acordo com os resultados obtidos no questionário (APÊNDICE D) (Figura 31).

Figura 31. Adaptação de diagrama de ecomapa para representar os condicionantes socioambientais das infecções parasitárias de crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, Ribeirão Preto, SP. 2013.

No presente estudo, é possível observar que a grande maioria das famílias das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP (88,2%) declararam possuir uma renda mensal inferior a três salários mínimos, sendo que estas vivem com quatro pessoas ou mais na mesma residência (Figura 20). Este fato pode ter contribuído para alta prevalência parasitária nas crianças que participaram do presente estudo (76,5%). Macedo (2005) afirma que famílias com menor poder aquisitivo são mais acometidas com enteroparasitoses em virtude das precárias condições sanitárias em que vivem e consequentes hábitos de higiene inadequados que acabam cooperando para disseminação destas infecções. A relação entre a renda familiar mensal e a frequência parasitária em crianças foi estudada por Vasconcelos et al. (2011) que observaram que o número de parasitoses intestinais decresciam gradativamente a medida que as crianças eram consideradas mais privilegiadas economicamente.

Em todo o mundo, 2,5 bilhões de pessoas carecem de saneamento básico (WHO /UNICEF, 2012) e mais de 80% de todo o esgoto sanitário gerado nos países em desenvolvimento é despejado, sem tratamento, em corpos hídricos (UN WWAP, 2009). Este cenário constitui um dos principais determinantes para disseminação de doenças de veiculação hídrica de transmissão oral-fecal.

No presente estudo, entretanto, o saneamento não foi considerado um forte condicionante para as doenças veiculadas pela água, uma vez que, a cobertura de abastecimento de água potável e a coleta de resíduos atendiam a toda a população. Os responsáveis alegaram que a água das residências era proveniente de rede pública, sendo que todas as crianças ingeriam esta água para consumo com exceção de uma criança que utilizava água mineral.

A água do município de Ribeirão Preto, local em que foi realizado o presente estudo, é proveniente do manancial subterrâneo Aquífero Guarani, sendo que o monitoramento de suas características é realizado periodicamente pela instituição municipal responsável e suas características microbiológicas são consideradas de ótima qualidade (JULIÃO, 2011). Neste contexto, Julião (2011) realizou uma pesquisa sobre a qualidade da água de reservatórios da cidade de Ribeirão Preto, SP, e como resultado não detectou a presença de parasitas em nenhuma amostra analisada, constatando a qualidade da fonte de água utilizada para o abastecimento público.

Com relação à coleta de esgoto, todos os responsáveis pelas crianças participantes do estudo, alegaram que possuíam este serviço na moradia. Cabe destacar que a cobertura de coleta e tratamento de esgoto na cidade de Ribeirão Preto atinge a 98% dos moradores, índice comparável aos países desenvolvidos, o que contribui para a melhoria da qualidade de vida da

população (AMBIENT, 2013; DAERP, 2013).

Os hábitos de higiene dos alimentos consumidos crus adotados pelos responsáveis e/ou pelas próprias crianças participantes do estudo podem ter contribuído para a alta prevalência parasitária observada nas crianças que vivem com HIV/aids. A literatura mostra uma alta frequência de parasitas entéricos em verduras consumidas em diversas regiões do mundo (AMORÓS, 2010; SHERCHAN et al., 2010; NETO et al., 2012; MAIKAI; BABA-ONOJA; ELISHA, 2013; RANJBAR-BAHADORI; MOSTOOPHI; SHEMSHADI, 2013).

Estudos conduzidos na cidade de Ribeirão Preto, SP, Brasil, mostraram a contaminação parasitária de hortaliças provenientes de hortas irrigadas com água de córregos, com efluente tratado e com efluente tratado e clorado bem como de verduras comercializadas em feiras livres sem o conhecimento da cadeia de produção (TAKAYANAGUI et al., 2007; NIKAIDO et al., 2010; RAGAZZI, 2012).

É conhecido que os protozoários parasitas *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp. são notadamente resistentes aos desinfetantes comuns e podem sobreviver por vários meses em alimentos crus (EL ZAWAWY et al., 2010), alertando-nos para práticas mais cuidadosas de higiene dos alimentos consumidos crus. Dessa forma, fica evidente que a realização da higiene dos alimentos consumidos somente mergulhando-os em água com solução desinfetante, não é suficiente para a remoção e/ou inativação de protozoários parasitas. Da mesma maneira não é recomendado realizar somente o enxágue desses alimentos em água corrente (GREGÓRIO et al., 2012).

Para a desinfecção de verduras, frutas e hortaliças aconselha-se lavar estes alimentos com água corrente e depois mergulhá-los em uma solução desinfetante, com hipoclorito de sódio ou vinagre, por 15 a 20 minutos. Após este período, os alimentos devem ser lavados novamente em água corrente para eliminar o excesso das soluções (WEISSINGER; BEUCHAT, 2000).

Outro fator de risco que pode ter contribuído para infecção parasitária das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP são os hábitos de higiene pessoal. Crianças em idade escolar geralmente desconhecem a importância dos princípios básicos de higiene, como pode ser observado na Figura 23, que mostra que aproximadamente metade das crianças não realizam a lavagem das mãos depois de usar o banheiro e/ou antes das refeições e/ou depois de brincar.

No que diz respeito às práticas recreativas realizadas pelas crianças que vivem com HIV/aids participantes do estudo, nota-se que a maioria relataram realizar recreação em piscinas de crianças, piscina de adultos ou rios. Embora não seja uma prática realizada

constantemente, este fato pode ter contribuído para infecção por parasitas por meio da ingestão acidental de água contaminada. *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. e *Cyclospora* spp. já foram encontrados em diversas regiões do mundo, em águas superficiais de rios, mares e lagos, bem como em águas subterrâneas e tratadas (MACKENZIE et al., 1994; SIMMONS et al., 2001; DI BENEDETTO et al., 2005; COUPE et al., 2006; SUNDERLAND et al., 2007; GAUT et al., 2008; PÉREZ-CORDÓN et al., 2008; YANG et al., 2008; LIM et al., 2009; MAGANA-ORDORICA et al., 2010; NETO et al., 2010; FREGONESI et al., 2012; SATO et al., 2013). Também há estudos mencionando a presença de (oo) cistos desses protozoários potencialmente patogênicos em águas de piscinas de crianças e adultos, uma vez que, são resistentes às condições adversas do meio, podendo sobreviver por vários meses em água, mesmo que cloradas (LOUIE et al., 2004; SCHETS; ENGELS; EVERS, 2004; ABDEL-SALAM, 2012).

De acordo com o presente estudo, *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp. foram identificados nas crianças participantes do estudo. Esses parasitas possuem alto potencial zoonótico, com capacidade de se desenvolver em hospedeiros humanos e animais (CDC, 2013). Dessa forma, é importante mencionar que todas as crianças participantes do estudo possuíam um ou mais animais de estimação em sua residência, representados por cachorros e gatos, o que pode ter relação com a alta prevalência parasitária encontrada (76,5%). A infecção da criança pelo contato direto com o animal é mais provável para os parasitas *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., uma vez que, os (oo)cistos eliminados nas fezes de um hospedeiro já estão na forma infectante. Isso não acontece para *Cyclospora* spp., cujos oocistos necessitam de dias em ambientes favoráveis para tornarem-se infectantes. Entretanto, as fezes dos animais podem permanecer por dias em quintais e/ou tanques de areias, e dessa forma, permite que os oocistos amadureçam e se tornem potencialmente infectantes para a pessoa que entrar em contato com as fezes por meio da rota fecal-oral. Villaseca et al. (2011) realizaram um estudo para detectar enteroparasitas em animais de estimação de crianças imunocomprometidas e encontraram uma prevalência de 5,6% para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em cães. No mesmo contexto, Sherchan et al. (2010) analisaram fezes de animais de estimação de crianças no Nepal e encontraram oocistos de *Cyclospora* spp. em cães. No Brasil, estudos realizados em diferentes regiões relataram a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp. em cães e gatos (FUNADA et al., 2007; ALMEIDA et al., 2010; SILVA, 2010). Dessa forma, é importante orientar as crianças quanto às práticas de higiene pessoal, como a lavagem das mãos depois de ter contato com o animal bem como evitar colocar as mãos sujas na boca, a fim de prevenir

qualquer tipo de zoonose.

Outra forma de transmissão direta dos parasitas é por meio do contato interpessoal. De acordo com o observado na Tabela 3, 94,1% das crianças frequentam escolas ou creches, sendo que 100% delas tem contato constante com outras crianças, o que poderia ter relação com a alta frequência de parasitas encontrados (76,5%).

A prevalência do *Giardia* spp. varia de acordo com a população e a região em estudo, sendo que, frequentemente, encontra-se entre 9% e 50%, apresentando concordância com o presente estudo. A alta prevalência de *Giardia* spp. (35,3%) e *E. coli* (47,1%) na população estudada pode ser justificada pela facilidade de transmissão interpessoal dos parasitas, corroborando com estudos que demonstram que a giardíase é uma das principais parasitoses intestinais entre as crianças brasileiras, especialmente aquelas que frequentam instituições. (REIS; CARNEIRO, 2007; BARRETT et al., 2008; LOPES et al., 2010; SILVA et al., 2011). A literatura brasileira aponta valores altos de prevalência de *Giardia* spp. em crianças institucionalizadas nas cidades de Vale do Aço, MG (24,7%), Botucatu, SP (27%) e Araguari, MG (51%) (CARVALHO; CARVALHO; MASCARINI, 2006; SANTOS et al., 2012; MAGALHÃES et al., 2013).

No mesmo contexto, Guerrant (1997) afirma que o *Cryptosporidium* spp. é um importante protozoário disseminado em instituições, o que poderia justificar sua presença em 23,5% das crianças que vivem com HIV/aids. Este resultado foi superior aos verificados em crianças que frequentavam instituições nas cidades de Blumenau, SC (7,6%) e Botucatu, SP (15,5%) (MASCARINI; DONALISIO, 2006; ANDRADE et al, 2008).

Poucos estudos são desenvolvidos para pesquisa de *Cyclospora* spp. em crianças institucionalizadas. Isso pode ser devido a probabilidade baixa de transmissão direta de pessoa a pessoa em virtude dos oocistos excretados nas fezes necessitarem de tempo em ambientes favoráveis para tornarem-se infectantes. Em um estudo realizado em Blumenau, SC, *Cyclospora* spp. foi encontrada em uma criança que frequentava instituição, assim como o resultado do presente estudo (ANDRADE et al., 2008).

No mesmo âmbito em que se insere a alta veiculação parasitária entre crianças que frequentam instituições, como escolas ou creches, o contato interpessoal intradomiciliar pode resultar na transmissão de parasitas entre os membros da família. A Tabela 9 apresenta os resultados coproparasitológicos de familiares de 10 pacientes que tiveram a participação de ao menos um membro da família no estudo.

Tabela 9. Distribuição dos parasitas identificados em familiares coabitantes da mesma residência das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP. Os dados foram organizados segundo idade, grau de parentesco e parasitas encontrados. Ribeirão Preto, SP. 2013.

n=20	Idade	Grau de parentesco	Parasitas
Criança 1	11		Negativo
1A	55	Mãe adotiva	Negativo
Criança 3	13		Negativo
3A	21	Irmão	Negativo
3B*	42	Pai	<i>Giardia</i> spp., larva de nematóide
3C	14	Irmão	<i>Giardia</i> spp.
Criança4	12		<i>Giardia</i> spp., <i>Cyclospora</i> spp.
4A	32	Tia (cuidadora)	Negativo
Criança 6	13		<i>Giardia</i> spp.
6A*	4	Prima	<i>Giardia</i> spp., <i>E.coli</i>
6B	9	Prima	<i>Giardia</i> spp., <i>E. coli</i>
6C	8	Prima	<i>Giardia</i> spp., <i>E.coli</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Enterobius vermiculares</i>
Criança 8	4		<i>Giardia</i> spp.
8A*	27	Mãe	Negativo
8B	7	Irmã	Negativo
Criança 9	9		<i>Giardia</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp.
9A*	65	Pai	<i>Giardia</i> spp., <i>E. coli</i>
9B*	35	Mãe	<i>Giardia</i> spp., <i>E. coli</i>
9C	11	Irmão	<i>Giardia</i> spp. <i>E. coli</i>
9D	10	Irmão	<i>Giardia</i> spp. <i>E. coli</i>
Criança 10	13		<i>E. coli</i>
10A	4	Irmã	<i>E. coli</i>
10B	32	Mãe adotiva	<i>E. coli</i>
Criança 11	7		<i>E. coli</i>
11A	8	Primo	<i>Giardia</i> spp., <i>E. coli</i>
Criança 13	11		<i>Giardia</i> spp., <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>E. coli</i>
13A	9	Irmã	Negativo
Criança 16	8		<i>E. coli</i>
16A	12	Irmã	Negativo
16B	3	Irmã	<i>E. coli</i>

As linhas com realce dizem respeito aos 10 pacientes que tiveram a participação de pelo menos um membro da família incluso no estudo. As linhas em branco correspondem aos familiares.

*Membros familiares que vivem com HIV/aids.

Por meio da Tabela 9, é possível observar, que em 60% das famílias há o mesmo parasita em ao menos dois indivíduos que residem na mesma casa, independentemente se vivem ou não com HIV/aids. Esses parasitas são representados por *Giardia* spp. e *Entamoeba coli*, corroborando com a afirmação de que o contato interpessoal resultante da aglomeração e convivência domiciliar, traz um consequente aumento do risco de contaminação parasitária

entre os membros familiares (FERREIRA; ANDRADE, 2005). É importante relatar que as crianças que vivem com HIV aids participantes do presente estudo tiveram patógenos semelhantes aos membros familiares soronegativos, com exceção de *Cyclospora* spp., larva de nematoide e *Enterobius vermiculares*. Esta semelhança entre parasitas, especialmente *Giardia* spp., em pessoas que vivem com HIV/aids e membros familiares HIV negativos também foi relatada por Lule et al. (2009).

Dessa forma, foi possível observar no presente estudo que diversos fatores podem ser condicionantes para o quadro de parasitas em crianças que vivem com HIV/aids, sendo eles intrínsecos ou extrínsecos ao indivíduo, como por exemplo, a resposta imune, o estilo de vida, o saneamento ambiental, os hábitos de higiene alimentar e pessoal bem como o contato frequente com animais e outras pessoas. Isso nos remete a grandes preocupações em termos de saúde pública, uma vez que, as manifestações clínicas para *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp, *Cyclospora* spp. pode evoluir para uma morbidade grave quando há uma supressão do sistema imunológico do indivíduo. Dessa forma, o diagnóstico precoce para enteroparasitas, o uso correto da terapia antirretroviral bem como o monitoramento das características imunológicas tornam-se imprescindíveis para a qualidade de vida dos pacientes que vivem com HIV/aids.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos propostos no presente estudo e os resultados obtidos é possível apontar as seguintes conclusões:

- Foi encontrada uma alta frequência de parasitas em crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, sendo representados por: *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp. e *Entamoeba coli*.
- Não foram encontrados oocistos de *Cystoisospora* spp. nas crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP, que participaram da pesquisa.
- Dentre os parasitas encontrados, a prevalência para protozoários patogênicos emergentes e reemergentes foi de 41,2%, sendo estes, *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora* spp., o que pode representar uma preocupação em termos de saúde pública para este grupo populacional, uma vez que, a sintomatologia para essas parasitoses pode ser severamente grave com há supressão do sistema imunológico.
- As características socioambientais, os hábitos comportamentais, bem como os hábitos de higiene pessoal e alimentar adotados pelas crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP podem ter sido fortes condicionantes para o quadro de enteroparasitoses.
- No presente estudo, o contato interpessoal resultante da aglomeração e convivência domiciliar, parece ter contribuído para um consequente aumento de contaminação parasitária entre os membros familiares que coabitam a mesma residência e entre os membros familiares e as crianças que vivem com HIV/aids.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A diarreia é uma manifestação clínica inerente ao quadro de pessoas que vivem com HIV/aids e, por isto, muitas vezes a sua causa é atribuída a diversos fatores, como a adaptação aos medicamentos antirretrovirais, a deficiência de lactase, dentre outros. Dessa forma, a investigação de agentes parasitários patogênicos acaba sendo negligenciada e sua presença subnotificada.

A diarreia representa uma grande preocupação para as pessoas que vivem com HIV/aids, especialmente para a população infantil. Crianças com o sistema imunológico suprimido além de serem mais vulneráveis a desenvolver doenças quando expostas a patógenos clássicos são também mais susceptíveis a infecções causadas por diferentes agentes oportunistas.

Os patógenos mais presentes em pessoas que vivem com HIV/aids são representados por *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp e *Cystoisospora* spp. As infecções causadas por esses parasitas podem ser assintomáticas ou não, dependendo do grau de imunossupressão do indivíduo. Crianças que fazem o uso correto da terapia antirretroviral geralmente terão uma infecção parasitária sem sintomatologia aparente. Entretanto, quando o sistema imunológico se torna suprimido, a manifestação pode evoluir para uma condição clínica grave, com quadros severos de diarreia, levando a desidratação, desnutrição e consequente morte.

Dessa forma, é de indubitável relevância a introdução de exames específicos para agentes patogênicos na rotina dos laboratórios dos hospitais que realizam o tratamento de pacientes que vivem com HIV/aids a fim de realizar um diagnóstico precoce para parasitoses e dessa forma contribuir para melhoria da qualidade de vida dessas pessoas.

Se o indivíduo for diagnosticado com *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp e *Cystoisospora* spp., deve-se imediatamente iniciar o tratamento com medicamentos específicos a fim de eliminar os parasitas e/ou os sintomas recorrentes da infecção.

Embora ainda não tenha cura parasitária para *Cryptosporidium* spp., é importante realizar o acompanhamento constante do paciente, monitorando sua condição imunológica e clínica, conscientizando-o para o uso correto dos antirretrovirais e medicamentos que são capazes de contribuir para uma condição clínica sem sintomas característicos de cryptosporidiose.

Diante do exposto, é também importante trabalhar na conscientização dos cuidadores das crianças que vivem com HIV/aids quanto às medidas de prevenção e controle das parasitoses intestinais, além de promover atividades que estimulem a adoção de hábitos saudáveis de higiene pessoal e alimentar, tanto dos pacientes quanto de seus familiares.

REFERÊNCIAS

ABEP. **Associação Brasileira de Estudos Populacionais**. Disponível em: www.abep.org.br. Acesso em: 25 set. 2013.

ABDEL-HAFEEZ, E. H.; AHMAD, A. K.; ALI, B. A.; MOSLAM, F. A. Opportunistic parasites among immunosuppressed children in Minia District, Egypt. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 50, n. 1, p. 57-62, 2012.

AFTER, R. A.; GOLDSBY, T. J.; KINDT, B. A. **Osborne, Kuby Immunology**, 4th ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.

AGHOLI, M.; HATAM, G. R.; MOTAZEDIAN, M. H. HIV/AIDS-associated opportunistic protozoal diarrhea. **AIDS Research and Human Retroviruses**, San Diego, v. 29, n. 1, p. 35-41, 2013.

ALEMU, A.; SHIFERAW, Y.; GETNET, G.; YALEW, A.; ADDIS, Z. Opportunistic and other intestinal parasites among HIV/AIDS patients attending Gambi higher clinic in Bahir Dar city, North West Ethiopia. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Heidelberg, v. 4, n. 8, p. 661-665, 2011.

ALMEIDA, C. G.; MARQUES, S. M. T.; MIQUELLUTI, D. J.; QUADROS, R. M.; Giardíase em crianças e cães do mesmo domicílio e de bairros periféricos de Lages, Santa Catarina. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 3, n. 1, p. 9-13, 2010.

AMBIENT. Disponível em: www.ambient.com.br. Acesso em: 10 set. 2013.

AMORÓS, I.; ALONSO, J. L.; CUESTA, G. *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts on salad products irrigated with contaminated water. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 76, n. 6, p. 1138-1140, 2010.

ANDRADE, F. A.; RODE, G.; FILHO, H. H. S.; GREINERT-GOULART, J. A. Parasitoses intestinais em um centro de educação infantil público do município de Blumenau, SC, Brasil, com ênfase em *Cryptosporidium* spp e outros protozoários. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. n.4, p. 332-340, 2008.

ANKARKLEV, J.; JERLSTRÖM-HULTQVIST, J.; RINGQVIST, E.; TROELL, K.; SVÄRD, S. G. Behind the smile: Cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. **Nature reviews. Microbiology**, London, v. 8, n. 6, p. 413-22, 2010.

ARRUDA, A.A.R.; QUADROS, R. M.; MARQUES, S. M. T.; ROCHA, G. C. Prevalência de giardíase em crianças e seus cães da periferia urbana de Lages, Santa Catarina. **Revista**

FZVA, Uruguaiana, v.15, n.2, p.126-134. 2008.

BACHUR, T. P. R. **Parasitoses intestinais em portadores de HIV/AIDS nas eras pré e pós terapia anti-retroviral potente**. 2007. Dissertação (Mestrado em Patologia). Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, 2007.

BARRETO, L. M.; GENSER, B.; STRINA, A.; TEIXEIRA, M. G.; ASSIS, A. M. O.; REGO, R. F.; TELES, C. A.; PRADO, M. S.; MATOS, S. M. A.; ALCANTARA-NEVES, N. M.; CAIRNCROSS, S. Impact of a Citywide Sanitation Program in Northeast Brazil on Intestinal Parasites Infection in Young Children. **Environmental health perspectives**, Triangle Park, v. 118, n. 11, p. 1637–1642, 2010.

BARRETT, D. M.; STEEL-DUNCAN, J.; CHRISTIE, C. D. C.; ELDEMIRE-SHEARER, D.; LINDO, J. F. Absence of opportunistic parasitic infestations in children living with HIV/AIDS in children's homes in Jamaica: pilot investigations. **West Indian Medical Journal**, Mona, v. 57, n. 3, p. 253-256, 2008.

BASAVARAJ; SREEKANTHA; SHEPUR, T. A.; NANDI; SHASHIDHAR V.; AVINASH, S. S.; AMARESHWAR, M. Intestinal parasitic infestations in HIV seropositive children. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, Ahmedabad, v. 3, n. 2, p. 293, 2012.

BARBONI, G.; CANDI, M.; VILLACÉ, M. I.; LEONARDELLI, A.; BALBARYSKI, J.; GADDI, E. Criptosporidiosis intestinal en niños con HIV/SIDA. **Medicina**, Buenos Aires, v. 68, n. 3, p. 213-218 2008 .

BOTERO, J. H.; CASTAÑO, A.; MONTOYA, M. N.; OCAMPO, N. E.; HURTADO, M. I.; LOPERA, M. M. A preliminary study of the prevalence of intestinal parasites in immunocompromised patients with and without gastrointestinal manifestations. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 197-200, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Tratamento clínico da infecção pelo HIV em crianças**. 2004. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/05consenso2.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2013.

_____. Lei nº 11.445, de 05 de janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico e para a política federal de saneamento básico. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 jan. 2007a.

_____. Ministério da Saúde. **Guia de Tratamento clínico da infecção pelo HIV em pediatria**. 2007b. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/consenso_pediatria_2007.pdf. Acesso em: 08 jan. 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV.** 2009. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/consenso_pediatico.pdf. Acesso em: 12 jan. 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias.** Guia de Bolso, Ed.8. Brasília. 2010. 448 p.

_____. Ministério da Saúde. Portaria n. 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 dez. 2011a.

_____. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico- AIDS e DST. 2011b.** Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2010/45974/boletim_2010_pdf_14544.pdf. Acesso em 08 ago. 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais.** Disponível em: <http://www.aids.gov.br/>. Acesso em: 18 ago. 2013.

CAPRA, F. O Ponto de Mutação: A Ciência, a Sociedade e a Cultura Emergente. São Paulo; Editora: Cultrix, 1982. 447 p.

CARDOSO, L. V.; GALISTEU, K. J.; SCHIESARI JÚNIOR, A.; CHAHLA, L. A.; CANILLE, R. M.; BELLOTO, M. V.; FRANCO, C.; MAIA, I. L.; ROSSIT, A. R.; MACHADO, R. L. Enteric parasites in HIV-1/AIDS-infected patients from a Northwestern São Paulo reference unit in the highly active antiretroviral therapy era. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba , v. 44, n. 6, p. 665-669, 2011 .

CARVALHO, T. B.; CARVALHO, L. R.; MASCARINI, L. M. Ocurrence of enteroparasites in Day care centers in Botucatu (São Paulo state, Brazil) with emphasis on *Cryptosporidium* sp., *Giardia duodenalis* and *Enterobius vermiculares*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 5, n. 8, p. 269-273, 2006.

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention.** Disponível em: <http://www.cdc.gov/> Acesso em: 05 out. 2013.

CVE. Centro de Vigilância Epidemiológica. **Ciclosporíases/*Cyclospora caytanensis*** Disponível em http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/inf_cyclospora.htm. Acesso em: 15 set. 2013.

CHAISSON, R. E.; GALLANT, J. E.; KERULY, J. C.; MOORE, R. D.; Impact of opportunistic disease on survival in patients with HIV infection. **AIDS**, London, v.12, n. 1, p. 29-33, 1998.

CIMERMAN, S.; CASTANEDA, C. G.; IULIANO, W. A.; PALACIOS, R. Perfil das enteroparasitoses diagnosticadas em pacientes com infecção pelo vírus HIV na era da terapia antiretroviral potente em um centro de referência em São Paulo, Brasil. **Parasitología Latinoamericana**, Santiago, v. 57, n. 3-4, p. 111-119, 2002.

CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B. Atualização em giardíase: diagnóstico e tratamento. **Pediatria Moderna**, São Paulo, v, 32, p. 239-40, 1996.

CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B.; LEWI, D. S. Conduta diagnóstica e terapêutica das parasitoses intestinais em pacientes portadores da infecção pelo HIV. **Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 7-9, 1999.

COUPE, S.; DELABRE, K.; POUILLLOT, R.; HOUDART, S.; SANTILLANA-HAYAT, M.; DEROUIN, F. Detection of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bienersi* in surface water, including recreational areas: one year prospective study. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 47, n. 3, p. 351-359, 2006.

DAERP. Departamento de água e esgoto de Ribeirão Preto. Disponível em: www.cohabrp.com.br. Acesso em: 19 out. 2013.

DELGADO, R. L. S. **Parasitoses intestinais em crianças de uma região rural da Guiné-Bissau: prevalência e relação com o estado nutricional**. 2010. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente). Universidade Nova de Lisboa Centro de Malária e de Doenças Tropicais. Lisboa, 2010.

DIB, H. H.; LU, S. Q.; WEN, S. F. Prevalence of *Giardia lamblia* with or without diarrhea in South East, South East Asia and the Far East. **Parasitology Research**, Berlin, v. 103, n. 2, p. 239-251, 2008.

DI BENEDETTO, M. A.; DI PIAZZA, F.; MAIDA, C. M.; FIRENZE, A.; OLIVERI, R. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wastewater, surface water and ground water samples in Palermo (Sicily). **Annali di Igiene**, Roma, v. 17, n. 5, p. 367-375, 2005.

DWIVEDI, K. K.; PRASAD, G.; SAINI, S.; MAHAJAN, S.; LAL, S.; BAVEJA, U. K. Enteric opportunistic parasites among HIV infected. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, Tokyo, v. 60, n. 2-3, p. 76-81, 2007.

EL ZAWAWY, L. A.; EL-SAID, D.; ALI, S. M.; FATHY, F. M. (2010). Disinfection efficacy of sodium dichloroisocyanurate (NADCC) against common food-borne intestinal protozoa. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, Cairo, v. 40, n. 1, p. 165-185. 2010.

FAYER, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**, New York, v. 124, n. 1, p. 90–97, 2010.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30 n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.

FERNANDES, M. I.M.; GALVÃO, L. C. SAWAMURA, R. Síndromes diarreicas nas crianças. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Disponível em:

http://www.fmrp.usp.br/cg/novo/images/pdf/conteudo_disciplinas/sindromesdiarreicas.pdf. Acesso em: 20 set. 2013.

FERREIRA, G. R.; ANDRADE, C. F. S. Alguns aspectos socioeconômicos relacionados a parasitoses intestinais e avaliação de uma intervenção educativa em escolas de Estiva Gerbi, São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberava, v. 38, n. 5, p. 402- 405, 2005.

FRAGUÁS, G.; SALVIANO, M. E. M.; FERNANDES, M. T. O.; SOARES, S. M.; BITTENCOURT, H. N. S. Transplante de medula óssea e a assistência de enfermagem fundamentada no Modelo Calgary. **Ciência, Cuidado e Saúde**, Maringá, v. 10, n. 1, p.51-57, 2011.

FREGONESI, B. M.; SAMPAIO, C. F.; RAGAZZI, M. F.; TONANI, K. A. A; SEGURA-MUÑOZ, S. I. *Cryptosporidium* e *Giardia*: desafios em águas de abastecimento público. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 602-609, 2012.

FRENKEL, J. K. SILVA, M. B. O.; SALDANHA, J. C.; SILVA-VERGARA, M. L.; CORREIA, D.; BARATA, C. H.; SILVA, E. L.; RAMIREZ, L. E.; PRATA, A. Presença extra-intestinal de cistos unizóicos de *Cystoisospora belli* em paciente com SIDA: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 3, p.409-412, 2003.

FUNADA, M.R.; Pena, H.F.J.; Soares, R.M.; Amaku, M.; Gennari, S.M. Frequência de parasitos gastrintestinais em cães e gatos atendidos em hospital-escola veterinário da cidade de São Paulo, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.5, p.1338-1340, 2007.

GARCIA, J. G. D.; SIMÕES, M. J. S.; ALVARENGA, V. L. S. Avaliação de diferentes métodos no diagnóstico laboratorial de *Giardia lamblia*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 27, n.3, p. 253-258, 2006.

GAUT, S.; ROBERTSON, L.; GJERDE, B.; DAGESTAD, A.; BRATTLI, B. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in Norwegian groundwater wells in bedrock. **Journal of Water and Health**, London, v.6, n. 3, p. 383-388, 2008.

GRABOW, W. O. K. Waterborne diseases: update on water quality assessment and control. **Water S.A**, Gezina, v. 22, n. 2, p. 193-202, 1996.

GREGÓRIO, D. S.; MORAES, G. F. A.; NASSIF, J. M.; ALVES, M. R. M.; CARMO, N. E.; JARROUGE, M. G.; BOUÇAS, R. I.; SANTOS, A. C. C.; BOUÇAS, T. R. J. Estudo da contaminação por parasitas em hostaliças da região leste de São Paulo. **Science in Health**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 96-103, 2012.

GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis: an emerging highly infectious threat. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 3, n. 1, p. 51–57, 1997.

GUPTA, S.; NARANG, S.; NUNAVATH, V.; SINGH, S. Chronic diarrhoea in HIV patients: Prevalence of coccidian parasites. **Indian Journal of Medical Microbiology**, India, v. 26, n. 2, p. 172-175, 2008.

HALL, R. L.; JONES, J. L.; HERWALDT, B. L. Surveillance for laboratory-confirmed sporadic cases of cyclosporiasis - United States, 1997-2008. **MMWR Surveillance Summaries**, Atlanta, v. 60, n. 2, p. 1-11, 2011.

HARAMOTO, E.; YAMADA, K.; NISHIDA, K. Prevalence of protozoa, viruses, coliphages and indicator bacteria in groundwater and river water in the Kathmandu Valley, Nepal. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 105, n. 12, p. 711-716, 2011.

HENRIKSEN S.; POHLENZ, J. Staining Cryptosporidia by a modified Ziehl–Neelsen technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 22, n.3-4, p. 594-596, 1981.

HOFSTRA, N.; BOUWMAN, A.F.; BEUSEN, A.H.; MEDEMA, G.J. Exploring global *Cryptosporidium* emissions to surface water. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 1, n. 442, p. 10-19, 2013.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo

2010. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 25 out. 2013.

IDRIS, N. S.; DWIPOERWANTORO, P. G.; KURNIAWAN, A.; SAID, M. Intestinal parasitic infection of immunocompromised children with diarrhoea: clinical profile and therapeutic response. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 4, n. 5, p. 309-317. 2010.

IGNOTO, R. F. **Avaliação quantitativa de risco microbiológico em águas e biossólidos: estado da arte**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)- Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

JHA, A. K.; UPPAL, B.; CHADHA, S.; BHALLA, P.; GHOSH, R.; AGGARWAL, P.; DEWAN, R. Clinical and Microbiological Profile of HIV/AIDS Cases with Diarrhea in North India, **Journal of Pathogens**, Cairo, v. 2012, p. 1-7, 2012.

JULIÃO, F. C. **Avaliação das condições microbiológicas e físico-químicas da água de reservatório domiciliar e predial: importância da qualidade dessa água no contexto da saúde pública**. 2011. Tese (Doutorado em Enfermagem em Saúde Pública) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

KARANIS, P.; KOURENTI, C.; SMITH, H. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. **Journal of Water and Health**, London, v. 5, n.1, p.1-38, 2007.

KASHYAP, B.; SINHA, S.; DAS, S.; RUSTAGI, N.; JHAMB, R. Efficiency of diagnostic methods for correlation between prevalence of enteric protozoan parasites and HIV/AIDS status--an experience of a tertiary care hospital in East Delhi. **Journal of Parasitic Diseases**, Lucknow, v. 34, n. 2, p. 63-67, 2010.

KOTGIRE, S. A.; TANKHIWALE, N.; TANKHIWALE, S.; DE, A.; DAS, D. Evaluation of parasites causing gastro-intestinal tract infestations in HIV/AIDS patients. **Indian Journal of Public Health**, Calcutta, v. 55, n. 4, p. 337-338, 2011.

LAISON, R. The Genus Cyclospora (Apicomplexa: Eimeriidae), with a description of Cyclospora schneideri n.sp. in the snake Anilius scytale scytale (Aniliidae) from Amazonian Brazil - A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 2, p. 103-110, 2005.

LEGUA, P.; SEAS, C. Cystoisospora and cyclospora. **Current opinion in infectious diseases**, London, v. 26, n. 5, p. 479-483, 2013.

LEITCH, G.J.; HE, Q. Cryptosporidiosis-an overview. **Journal of Biomedical Research**, Nanjing, v. 25, n. 1, p. 1-16, 2012.

LEW, E. A.; POLES, M. A.; DIETERICH, D. T. Diarrheal diseases associated with HIV infection. **Gastroenterology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 26, n. 2, p. 259-290. 1997.

LEWTHWAITE, P.; GILL, G. V.; HART, C. A.; BEECHING, N. J. Gastrointestinal parasite in the immunocompromised. **Current Opinion in Infectious Diseases**, London, v. 18, n. 5, p. 427-435, 2005.

LIM, Y. A.; RAMASAME, S. D.; MAHDY, M.A.; SULAIMAN, W. Y.; SMITH, H. V. Detection and molecular characterization of *Giardia* isolated from recreational lake water in Malaysia. **Parasitology Research**, Berlin, v. 106, n. 1, p.289-91, 2009.

LOPES, L. M.; SANTOS, E. S.; SAVEGNAGO, T. L.; SALVADOR, F. A.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R. Ocorrência de parasitas comensais intestinais em crianças da comunidade da Vila Inglesa, em São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.69, p. 252-254, 2010.

LULE, J. R.; MERMIN, J.; AWOR, A.; HUGHES, P.; KIGOZI, A.; WAFULA, W.; NAKANJAKO, D.; KAHARUZA, F.; DOWNING, R.; QUICK, R. Aetiology of diarrhoea among persons with HIV and their family members in rural Uganda: a community-based study. **East African Medical Journal**, Nairobi, v. 86, n. 9, p. 422-429, 2009.

LOUIE, K.; GUSTAFSON, L.; FYFE, M.; GILL, I.; MACDOUGALL, L.; TOM, L.; WONG, Q.; ISAAC-RENTON, J. An outbreak of *Cryptosporidium parvum* in a Surrey pool with detection in pool water sampling. **Canada Communicable Disease Report**, Ottawa, v. 30, n. 7, p. 61-66, 2004.

MACHADO, A. R. L.; SILVA, C. L. O.; DUTRA, C. E.; GALVÃO, N. A. M. AIDS na infância: orientação básica no atendimento. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 70, n. 1, p. 5-9, 1994.

MACEDO, H. S. Prevalência de parasitos e comensais intestinais em crianças de escolas de rede publica municipal de Paracatu (MG). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 209-213, 2005.

MACKENZIE, W. R.; HOXIE, N. J.; PROCTOR, M. E.; GRADUS, M. S.; BLAIR, K. A.; PETERSON, D. E.; KAZMIERCZAR, J. J.; ADDISS, D. G.; FOX, K. R.; ROSE, J. B., DAVIS, J. P. A massive outbreak in Milwaukee of cryptosporidium infection transmitted

through the public water supply. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 331, n. 3, p. 161-167, 1994.

MAGALHÃES, R.F.; AMARO, P. F.; SOARES, E. B.; LOPES, L. A.; MAFRA, R.; SAINT-CLAIR, P.; ALBERTI, L. R. Ocorrência de enteroparasitoses em crianças de creches na região do Vale do Aço- MG, Brasil. **Revista Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v.15, n. 3, p, 187-191, 2013.

MBAE, C. K.; NOKES, J.; MULINGE, E.; NYAMBURA, J.; WARURU, A.; KARIUKI, S. Intestinal parasitic infections in children presenting with diarrhoea in outpatient and inpatient settings in an informal settlement of Nairobi, Kenya. **BMC Infectious Diseases, London**, v. 13, n. 1, p. 243, 2013.

MAGANA-ORDORICA D, MENA K, VALDEZ-TORRES JB, SOTO-BELTRAN M, LEON-FELIX J, CHAIDEZ C. Relationships between the occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* and physicochemical properties of marine waters of the Pacific Coast of Mexico. **Journal of Water and Health**, London, v. 8, n. 4, p. 797-802, 2010.

MAIKAI , B. V.; ELISHA , I. A.; BABA-ONOJA, E. B. T. Contamination of raw vegetables with *Cryptosporidium* oocysts in markets within Zaria metropolis, Kaduna State, Nigeria. **Food Control**, Amsterdam. , v. 31, n. 1, p. 45-48, 2013.

MARCOS, L. A.; GOTUZZO, E. Intestinal protozoan infections in the immunocompromised host. **Current Opinion in Infectious Diseases**, London , v. 26, n. 4, p. 295-301, 2013.

MAREK, A.; McCOOL, K., GOING, J.; SPENCE, G.; JONES, B.; ALEXANDER, C. What a Professor Learned About *Cyclospora cayetanensis* by Attending Digestive Diseases Week Conference in Chicago. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 107, n. 7, p. 1109–1111, 2012.

MASCARINI, L. M.; DONALISIO, M. R. Giardíase e criptosporidiose em crianças institucionalizadas em creches no estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba , v. 39, n. 6, p. 577-579, 2006.

NEIRA O P, BARTHEL M E, WILSON L G, MUÑOZ S N. *Isospora belli* infection in HIV positive patients: report of two cases and literature review. **Revista Chilena de Infectología, Santiago**, v. 27, n. 3, p. 219-227, 2010.

NKENFOU, C. N.; NANA, C. T.; PAYNE, V. K. Intestinal parasitic infections in HIV infected and non-infected patients in a low HIV prevalence region, West-Cameroon. **PloS One**, San Francisco, v. 8, n. 2, 2013.

NETO, V. A.; GRYSCHK, R. C. B.; AMATO, V. S.; TUON, F. F. **Parasitologia: Uma Abordagem Clínica**. Rio de Janeiro; Editora Elsevier, 2008. 433p.

NETO, R. C.; dos SANTOS, L. U.; SATO, M. I.; FRANCO, R. M. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in surface water supply of Campinas, southeast Brazil. **Water Science and Technology, Oxford**, v. 62, n. 1, p. 217-222, 2010.

NETO, N. J. G.; PESSOA, R. M. L.; QUEIROGA, I. M. B. N.; MAGNANI, M.; FREITAS, E. L. S.; SOUZA, E. L.; MACIEL, J. F. Bacterial counts and the occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*) from different cropping systems in Brazil. **Food Control**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 47-51, 2012.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11ed. São Paulo; Editora Atheneu, 2005. 469p.

NIEMINSKI, E.C., ONGERTH, J.E. Removing *Giardia* and *Cryptosporidium* by conventional treatment and direct filtration. **Journal of American Water Works Association**, New York, v. 87, n. 9, p. 90-106, 1995.

NIKAIDO, M.; TONANI, K. A.; JULIÃO, F. C.; TREVILATO, T. M.; TAKAYANAGUI, A. M.; SANCHES, S. M.; DOMINGO, J. L.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Analysis of bacteria, parasites, and heavy metals in lettuce (*Lactuca sativa*) and rocket salad (*Eruca sativa* L.) irrigated with treated effluent from a biological wastewater treatment plant. **Biological Trace Element Research**, London, v. 134, n. 3, p. 342-351, 2010.

OLIVEIRA-SILVA, M. B. de; OLIVEIRA, L. R. de; RESENDE, J. C. P.; PEGHINI, B. C.; RAMIREZ, L. E.; LAGES-SILVA, E. et al. Seasonal profile and level of CD4+ lymphocytes in the occurrence of cryptosporidiosis and cystoisosporidiosis in HIV/AIDS patients in the Triângulo Mineiro region, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 5, p. 512-515, 2007.

ORTEGA, R.; SANCHEZ, R. Update on *Cyclospora cayetanensis*, a Food-Borne and Waterborne Parasite. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 3, n. 1. P. 218-234, 2010.

PEREIRA, A. P.; DAMIN, J.; LIMA, L. M.; ULIANO, R. W. Artigo de Revisão - *Cystoisospora belli*: aspectos clínicos e diagnóstico laboratorial. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, p. 283-286, 2009.

PEREIRA, J.; SOCCOL, V.; COSTA, A.; CASTRO, E.; OSAKI, S.; PAULINO, R. *Cryptosporidium* spp.: para controlar é necessário conhecer. **Revista Saúde e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 13-25, 2010. PÉREZ-CORDÓN G.; ROSALES, M. J.; VALDEZ, R.

V VARGAS-VÁSQUE, F. CORDOVA, O. Detection of water-borne and food-borne intestinal parasites oh Trujillo, Peru. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica**, Lima, v. 25, n. 1, p. 144-148, 2008.

POLACOW VO, SCAGLIUSI FB, FURTADO SM, CARRIÉ ML, PEREIRA GM, AVILEIS CG, GUIDIN D, SOUZA SB, NUNES MF. Alterações do estado nutricional e dietoterapia na infecção por HIV. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Porto Alegre, v. 19, n. 2, p. 79-85, 2004.

POPULIN, A. R. T.; CARVALHO, P. G.; NISHI, L.; NAKAMURA, C. V.; GUILHERME, A. L.F. Enteropatógenos relacionados à diarreia em pacientes HIV que fazem uso de terapia anti-retroviral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v 42, n 5, p. 551-555, 2009.

RAGAZZI, M. F. **Estudo comparativo da qualidade parasitológica e toxicológica entre hortaliças cultivadas com água de reuso e hortaliças comercializadas em Ribeirão Preto - SP**. 2012. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde Pública) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

RANJBAR-BAHADORI, S. H.; MOSTOOPHI, A.; SHEMSHADI, B. Study on *Cryptosporidium* contamination in vegetable farms around Tehran. **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, v. 30, n. 2, p. 193-198, 2013.

REIS, R. M.; CARNEIRO, L. C. Indicador higiênico-parasitário em manipuladores de alimentos em Morrinhos, GO. **Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 29, n. 68-69, p. 313-317, 2007.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 2.ed. Rio de Janeiro; Editora Guanabara Koogan S.A., 2002. 379 p.

ROBERTSON, L. J.; HANEVIK K, ESCOBEDO, A. A.; MØRCH, K.; LANGELAND, N. Giardiasis--why do the symptoms sometimes never stop?. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 75-82, 2010.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J.; CANUT-BLASCO, A.; MARTÍN-SÁNCHEZ, A. M. Seasonal prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in children attending day care centers in Salamanca (Spain) studied for a period of 15 months. **European Journal of Epidemiology**, Rome, v. 12, n. 3, p. 291-295, 1996.

ROSE JB, HUFFMAN DE, GENNACCARO A. Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. **FEMS microbiology reviews**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 113-123. 2002.

ROSSIGNOL, J. F. *Cryptosporidium* and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs. **Experimental Parasitology**, New York, v. 124, n. 1, p. 45-53, 2010.

ROSSIT, A. R. B.; ALMEIDA, M. T. G.; NOGUEIRA, C. A. M.; OLIVEIRA, J. G. C.; BARBOSA, D. M. U.; MOSCARDINI, A. C.; MASCARENHAS, J. D. P.; GABBAY, Y. B.L; MARQUES, F. R.; CARDOSO, L. V.; CAVASINI, C. E.; MACHADO, R. L. D. Bacterial, yeast, parasitic, and viral enteropathogens in HIV-infected children from São Paulo State, Southeastern Brazil. **Virology**, New York, v. 57, n. 1, p. 59-66. 2007.

SANTOS, C. K.; GRAMA, D. F.; LIMONGI, J. E.; COSTA, F. C.; COUTO, T. R.; SOARES, R. M.; MUNDIM, M. J.; CURY, M. C. Epidemiological, parasitological and molecular aspects of *Giardia duodenalis* infection in children attending public daycare centers in southeastern Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 106, n. 8, p. 473-479, 2012.

SATO, M. I. Z.; GALVANI, A. T.; PADULA, J. A.; NARDOCCI, A. C.; LAURETTO, M. S.; RAZZOLINI, M. T. P; HACHICH, E. M. Assessing the infection risk of *Giardia* and *Cryptosporidium* in public drinking water delivered by surface water systems in Sao Paulo State, Brazil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 442, n. 2013, p. 389–396, 2013.

SANYAOLU, A. O.; OYIBO, W. A.; FAGBENRO-BEYIOKU, A. F.; GBADEGESHIN, A. H.; IRIEMENAM, N. C. Comparative study of entero-parasitic infections among HIV sero-positive and sero-negative patients in Lagos, Nigeria. **Acta Tropica**, Basel, v. 120, n. 3, p.268-272, 2011.

SCHETS, F. M.; ENGELS, G. B.; EVERS, E. G. *Cryptosporidium* and *Giardia* in swimming pools in the Netherlands. **Journal of Water and Health**, London, v. 2, n. 3, p. 191-200, 2004.

SHERCHAN, J. B.; SHERPA, K.; TANDUKAR, S.; CROSS, J. H.; GAJADHAR, A.; SHRECHAND, J. B. Infection of *Cyclospora cayentanensis* in Diarrhoeal Children of Nepal. **Journal of the Nepal Paediatric Society**, Kathmandu, v. 30, n. 1, p. 23-30, 2010.

SILVA, A. V. M.; BRAGA, F. H.; VIEIRA, F. S.; SILVA, J. H.; ARRUDA, F. C. S.; LAGE, C.; ALMEIDA, A. N. P.; MELO, M. N. A prática do ensino por meio da promoção da saúde em escola do município de Nova Lima, MG-Brasil. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v.6, n.2, p.43-49, 2011.

SILVA, S. M. M. D. **Prevalência de *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* spp. em populações de cães de diferentes regiões do município de Porto Alegre, RS, Brasil.** 2010. Dissertação

(Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

SIMMONS, G.; HOPE, V.; LEWIS, G.; WHITMORE, J.; GAO, W. Contamination of potable roof-collected rainwater in Auckland, New Zealand. **Water research**, Oxford, v. 35, n. 6, p. 1518-1524, 2001.

SMITH, A.; REACHER, M.; SMERDON, W.; ADAK, G. K.; NICHOLS, G.; CHALMERS R. M. Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992–2003. **Archive of Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.134, n. 6, p. 1141-1149, 2006.

SOTO, F. R. M.; FONSECA, Y. S. K.; RISSETO, M. R.; ARINI, M. de L. B.; MARCHETTE, D. S.; CAMARGO, C. da C. Programa de saneamento da água de poços rasos de escolas públicas rurais do município de Ibiúna-SP. **Revista Ciência em Extensão**, São Paulo, v.3, n.2, p.11, 2007.

SOUZA, R. F.; AMOR, A. L. M. Controle de qualidade de técnicas realizadas nos laboratórios de parasitologia da Secretaria Municipal de Saúde do Município de Salvador, Bahia. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 42, n.2, p. 101-106, 2010.

SUNDERLAND, D.; GRACZUK, T. M.; TAMANG, L.; BREYSSE, P. N. Impact of bathers on levels of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia lamblia* cysts in recreational beach waters. **Water Research**, Oxford, v. 41, n. 15, p. 3483-3489, 2007.

TAKAYANAGUI, O. M.; CAPUANO, D. M.; OLIVEIRA, C. A. D.; BERGAMINI, A.M.M.; OKINO, M.H.T.; CASTRO E SILVA, A. M.C.; OLIVEIRA, M. A.; RIBEIRO, E. G.A.; TAKAYANAGUI, A. M.M. Avaliação da contaminação de hortas produtoras de verduras após a implantação do sistema de fiscalização em Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 2, 2007 .

TEIXEIRA, J. C.; HELLER, L.; BARRETO, M. L. *Giardia duodenalis* infection: risk factors for children living in sub-standard settlements in Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 6, p. 1489-1493, 2007.

TEKLEMARIAM, Z.; ABATE, D.; MITIKU, H.; DESSIE, Y. Prevalence of Intestinal Parasitic Infection among HIV Positive Persons Who Are Naive and on Antiretroviral Treatment in Hiwot Fana Specialized University Hospital, Eastern Ethiopia. **International Scholarly Research Network AIDS**, New York, v. 2013, vol. 2013, Article ID 324329, 6 pages, 2013. doi:10.1155/2013/324329.

THOMPSON, R. C. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, n. 12-13, p. 1259-1267, 2000.

TOLEDO, MJ; PALUDETTO, AW; MOURA, FDE T; NASCIMENTO, ES; CHAVES, M; ARAÚJO, SM; MOTA, LT. Evaluation of enteroparasite control activities in a Kaingáng community of Southern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 6, p.981-990, 2009.

USEPA. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. Office of Water. Washington DC. **Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA. EPA-821-R-01-025**, 2005.

VASCONCELOS, I. A. B.; OLIVEIRA, J. W.; CABRAL, F. R. F.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A. Prevalência de parasitoses intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, Estado do Ceará: um problema recorrente de saúde pública. **Acta Scientiarum Health Sciences**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 35-41, 2011.

VILELA, E.M.; MENDES, I.J.M. **Entre Newton e Einstein: desmedicalizando o conceito de saúde**. Ribeirão Preto; Editora: Holos, 2000, 83 p.

VILLAMOR, E.; FATAKI, M.R.; BOSCH, R. J.; MBISE, R. L.; FAWZI, W.W., Human immunodeficiency virus infection, diarrheal disease and sociodemographic predictors of child growth, **Acta Paediatrica**, Oslo, v. 93, n. 3, p. 372–379. 2004.

VILLASECA, K. A.; LOPEZ, J.; PENA, A.; LOPEZ, J. C. Tenencia y estado de salud de mascotas de niños inmunocomprometidos, con énfasis en enfermedades zoonóticas. **Revista Chilena de Infectología**, Santiago, v. 28, n. 3, p. 205-210, 2011 .

WENSAAS, K. A.; LANGE LAND, N.; RORTVEIT, G.; Post-infectious gastrointestinal symptoms after acute Giardiasis. A 1-year follow-up in general practice. **Family practice**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 255-259, 2010.

WHO. **Combating waterborne disease at the household level**. 2007. Disponível em: www.who.int/entity/household_water/advocacy/combating_disease/en/. Acesso em: 2 out.2013.

WHO. Disponível em: <http://www.who.int>. Acesso em: 3 out. 2013.

UN WWAP. **United Nations World Water Assessment Programme**. The World Water Development Report 3: Water in a Changing World. UNESCO: Paris, France. 2009.

WHO;UNICEF (2012). **Progress on drinking water and sanitation: 2012 update**. WHO/UNICEF Joint Monitoring Programme for Water Supply and Sanitation, USA.2012.

WHO; UNICEF. **Progress on Sanitation and Drinking-water**. Geneva. 2010. 58p.

WRIGHT, M. S.; COLLINS, P. A. Waterborne transmission of *Cryptosporidium*, *Cyclospora* and *Giardia*. **Journal of the American Society for Clinical Laboratory Science**, Washington, v. 10, n. 5, p. 287-290, 1997.

WUMBA, R.; LONGO-MBENZA, B.; MENOTTI, J.; MANDINA, M.; KINTOKI, F.; SITUAKIBANZA, N. H.; KAKICHA, M. K.; ZANGA, J.; MBANZULU-MAKOLA, K.; NSEKA, T.; MUKENDI, J. P.; KENDJO, E.; SALA, J.; THELLIER, M. Epidemiology, clinical, immune, and molecular profiles of microsporidiosis and cryptosporidiosis among HIV/AIDS patients. **International Journal of General Medicine**, Auckland, v. 5, p. 603-611, 2012.

YAI, L. E. O.; BAUAB, A. R.; HIRSCHFELD, M. P. M.; OLIVEIRA, M. L.; DAMACENO, J. T. The first two cases of *Cyclospora* in dogs, São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 39, n. 3, 177-180, 1997.

YANG, W.; CHEN, P. VILLEGAS, E. N.; LANDY, R. B.; KANETSKY, C.; CAMA, V.; DEAREN, T.; SCHULTZ, C. L.; ONNDORFF, K. G.; PRELEWICZ, G. J.; BROWN, M. H.; YOUNG, K. R.; XIAO, L. *Cryptosporidium* source tracking in the Potomac River watershed. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, n. 21, p. 6495-504, 2008.

XIAO, L.; FAYER, R.; RYAN, R.; UPTON, S. P. *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 17, n 1, p. 72-97, 2004.

XIAO, L. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. **Experimental parasitology**, New York, v. 124, n. 1, p. 80-89, 2010.

ZALI, M. R.; MEHR, A. J.; REZAIAN, M.; MEAMAR, A. R.; VAZIRI, S.; MOHRAZ, M. Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-positive individuals in Iran. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, Tokyo, v. 57, n. 6, p. 268-270, 2004.

APÊNDICES

APÊNDICE A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O(a) menor sob sua responsabilidade está sendo convidado a participar da pesquisa: “Veiculação hídrica de parasitas oportunistas e sua prevalência em crianças com HIV/aids: *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp.”, a qual tem por finalidade analisar amostras de fezes de crianças para conhecimento da condição parasitológica das mesmas. Servirá, portanto, para podermos verificar se a criança está com algum parasita (“verme”) que pode vir causar diarreia.

Ao aceitar a participação da criança neste estudo o(a) Sr(a) permitirá a obtenção e ficará responsável pela coleta de fezes do menor sob sua responsabilidade. Dessa forma o Sr(a) coletará em sua própria residência, em um prazo de 20 dias, 3 amostras de fezes diferentes que deve ser realizada em 3 dias diferentes, sendo que forneceremos todo material necessário com as instruções de como fazer a coleta. Informamos que caberá ao(à) Sr(a) trazer as amostras coletadas no dia da próxima consulta agendada pelo Hospital das Clínicas (HC) ou se necessário iremos até a sua residência para buscar as amostras em dia previamente combinado com a pesquisadora. Pediremos também que o(a) Sr(a) responda a um questionário que será lido e preenchido pela pesquisadora. Este questionário tem informações sobre a forma como a criança vive em casa e na rua, sobre alguns cuidados de saúde e algumas questões sobre diarreia. Isso serve para podermos ver se as condições de vida da criança podem estar ajudando ela a pegar esses parasitas (“vermes”). Esse questionário levará em torno de 15 minutos para responder e será realizado em dia de consulta agendada pelo HC. Os materiais para coleta e as instruções também serão entregues no mesmo dia. Se o Sr(a) concordar com a pesquisa, algumas informações sobre a saúde da criança serão consultadas no prontuário, que fica disponível sobre a responsabilidade do Hospital das Clínicas.

A participação do menor na pesquisa não é obrigatória e o(a) Sr(a) tem liberdade de não querer que a criança participe. Caso isto ocorra, o atendimento neste hospital continuará ocorrendo da mesma forma.

Se concordar com a pesquisa, o(a) Sr(a) não terá nenhum tipo de despesa financeira, bem como nada lhe será pago. Ainda, nem o nome do(a) Sr(a) e nem o da criança serão divulgados, e os resultados do estudo, serão utilizados somente para fins acadêmicos (pesquisa). Cabe destacar que as amostras de fezes coletadas serão desprezadas após o uso nesta pesquisa, não sendo utilizadas em nenhuma outra.

A pesquisa pode causar algum constrangimento no(a) Sr(a) ou a criança na hora de responder o questionário. Para evitar esse risco os pesquisadores buscarão explicar

detalhadamente o estudo, além de tornar claro que caso não queira ou não saiba responder alguma pergunta é só dizer que não quer responder, sendo que não haverá problema algum.

Caso o(a) Sr(a) queira que a criança deixe de participar da pesquisa a qualquer momento, basta entrar em contato com a pesquisadora por meio do endereço e telefone constantes na parte final deste termo das 8:00 às 17:00, de segunda a sexta-feira. Também poderá entrar em contato se tiver alguma pergunta ou dúvida sobre o andamento ou resultado da pesquisa.

Quando a pesquisa terminar, tanto o(a) Sr(a) quanto o médico responsável pela criança receberão os resultados dos exames. Dessa forma, se a criança apresentar algum parasita (“verme”), ela receberá um tratamento e um acompanhamento adequado. Além disso, daremos orientações para controle e prevenção de infecções parasitárias, ou seja, para que a criança evite pegar “vermes”, o que vai contribuir para uma melhor qualidade de vida do paciente e das pessoas ao seu redor.

Após estes esclarecimentos, solicitamos seu consentimento para que o menor sob sua responsabilidade possa fazer parte da pesquisa. Este termo será assinado em duas cópias, assegurando-lhe o direito de receber uma delas assinada.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em colaborar e autorizar a coleta de amostras de fezes para a pesquisa.

Ribeirão Preto, ____ de ____ de ____.

Nome do Responsável

Assinatura do Responsável

Assinatura do Pesquisador*

Assinatura do Orientador

Assentimento da criança:

Eu, _____, aceito participar da pesquisa.

*Brisa Maria Fregonesi / e-mail: brisa_fregonesi@yahoo.com.br - telefone: (16) 3602-0530

Endereço: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental (LEPA) - Avenida Bandeirantes, 3900 - Campus Universitário, Monte Alegre. Ribeirão Preto / SP - CEP 14040-902.

APÊNDICE B- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os demais participantes da pesquisa

O(A) Sr(a) está sendo convidado a participar da pesquisa: “Veiculação hídrica de parasitas oportunistas e sua prevalência em crianças com HIV/aids: *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp.”, a qual tem por finalidade analisar amostras de fezes tanto de crianças que vivem com HIV/aids quanto dos demais familiares que residem no mesmo local, para conhecimento da condição parasitológica dos mesmos. Servirá, portanto, para podermos verificar se a criança e/ou o(a) Sr(a) está com algum parasita (“verme”) que pode vir causar diarreia.

Ao aceitar participar deste estudo o(a) Sr(a) ficará responsável por coletar, em sua própria residência, 3 amostras de fezes diferentes que deve ser realizada em 3 dias diferentes, sendo que forneceremos todo material necessário com as instruções de como fazer a coleta. O(a) Sr(a) terá um prazo de 20 dias para realização das coletas de fezes. Informamos que iremos até a sua residência para buscar as amostras em dia previamente combinado. Sua participação na pesquisa não é obrigatória e o(a) Sr(a) tem liberdade de não participar.

Se concordar com a pesquisa, o(a) Sr(a) não terá nenhum tipo de despesa financeira, bem como nada lhe será pago. Ainda, nem o nome do(a) Sr(a) e nem o da criança serão divulgados, e os resultados do estudo, serão utilizados somente para fins acadêmicos (pesquisa). Cabe destacar que as amostras de fezes coletadas serão desprezadas após o uso nesta pesquisa, não sendo utilizadas em nenhuma outra.

A pesquisa não lhe oferecerá nenhum risco e caso o(a) Sr(a) queira deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, basta entrar em contato com a pesquisadora por meio do endereço e telefone constantes na parte final deste termo, das 8:00 às 17:00, de segunda a sexta-feira. Também poderá entrar em contato se tiver alguma pergunta ou dúvida sobre o andamento ou resultado da pesquisa.

Quando a pesquisa terminar, tanto o(a) Sr(a) quanto o médico responsável pela criança receberão os resultados dos exames. Dessa forma, se a criança e/ou o(a) Sr(a) apresentar algum parasita (“verme”), receberá um tratamento e um acompanhamento adequado. Além disso, receberá orientações para controle e prevenção de infecções parasitárias, ou seja, para que a criança e as demais pessoas que convivem com ela evitem pegar “vermes”, o que vai contribuir para uma melhor qualidade de vida do paciente e das pessoas ao seu redor.

Após estes esclarecimentos, solicitamos seu consentimento para que possa fazer parte da pesquisa. Este termo será assinado em duas cópias, assegurando-lhe o direito de receber uma delas assinada.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em colaborar e autorizar a coleta de amostras de fezes para a pesquisa.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Nome do Responsável

Assinatura do Responsável

Assinatura do Pesquisador*

Assinatura do Orientador

Assentimento da criança:

Eu, _____, aceito participar da pesquisa.

*Brisa Maria Fregonesi / e-mail: brisa_fregonesi@yahoo.com.br - telefone: (16) 3602-0530
Endereço: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental (LEPA) - Avenida Bandeirantes, 3900 - Campus Universitário, Monte Alegre. Ribeirão Preto / SP - CEP 14040-902.

APÊNDICE C- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos Especialistas

Prezado(a) Senhor(a)

Estamos desenvolvendo um trabalho intitulado “Veiculação hídrica de parasitas oportunistas e sua prevalência em crianças com HIV/aids: *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Cystoisospora* spp. e *Cyclospora* spp.”, a qual tem por finalidade analisar amostras de fezes, de crianças para conhecimento da condição parasitológica das mesmas.

Além das análises parasitológicas de água destinadas ao consumo humano e de fezes de crianças de 0 a 13 anos que vivem com HIV/aids atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, será aplicado um questionários sobre as características sociais, econômicas e de moradia, bem como sobre as condições higiênicas e intestinais da criança, para que possamos avaliar melhor o quadro e a possível relação das condições de vida com a transmissão parasitária. Também coletaremos algumas informações a respeito do HIV/aids e das condições imunológicas da criança no prontuário, que fica disponível sobre a responsabilidade do HCFMRP/USP.

Nessa etapa, portanto, necessitamos da participação de especialistas atuantes na área para analisar o instrumento proposto quanto ao conteúdo, construção das questões, semântica, clareza e aparência, com o propósito de avaliar a relevância dos temas abordados para o estudo proposto.

Dessa forma, o(a) Senhor(a) está sendo convidado a participar da pesquisa por meio da sua valiosa colaboração no sentido de proceder à leitura e dar sugestões, caso houver, para as questões que compõem este instrumento, de forma a torná-lo de mais fácil compreensão e abrangência. Vale lembrar que este instrumento constitui-se de um questionário que será aplicado aos responsáveis legal pelas crianças que vivem com HIV/aids que são atendidas no Hospital das Clínicas da faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e uma outra parte do questionário refere-se a alguns dados que serão retirados do prontuário do paciente.

Esperamos contar com sua valiosa colaboração para opinar a respeito do nível de compreensão, clareza e facilidade ou dificuldade no preenchimento desse instrumento.

Caso perceba algum desconforto ou risco perante sua participação na pesquisa, o(a) Sr(a) pode se recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo, sem penalização ou prejuízo, tendo o direito de receber respostas a qualquer pergunta ou dúvida. Além disso, poderá analisar o questionário em horário adequado às suas atividades.

Cabe destacar que sua participação é voluntária nesta pesquisa, e que serão garantidos o sigilo e privacidade quanto a sua participação.

O(A) Sr(a) receberá uma cópia assinada deste termo.

Atendendo às recomendações do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto-EERP/USP, solicitamos sua anuência para participação nesta pesquisa.

Eu, _____,
RG _____, declaro estar de acordo em participar como especialista da pesquisa coordenada pela Profa Susana Inés Segura Muñoz e desenvolvida pela aluna Brisa Maria Fregonesi.

Local, data _____

Assinatura: _____

Agradecemos antecipadamente por sua colaboração e aguardamos o retorno.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Susana Inés Segura Muñoz (Orientadora)
Laboratório de Ecotoxicologia e Parasitologia Ambiental
Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto -Universidade de São Paulo.
susis@eerp.usp.br; Telefone: (16)3610-0530

Brisa Maria Fregonesi (Bióloga)
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto- Universidade de São Paulo
brisa_fregonesi@yahoo.com.br; Telefone: (16)3610-0530

APÊNDICE D- Coleta de Informações sobre condições sócio-demográficas, hábitos de higiene alimentar e pessoal e padrão e características das evacuações das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HCFMRP-USP.

Registro HCFMRP:		Data da entrevista: / /	
IDENTIFICAÇÃO			
Nome da criança:		Iniciais:	
Data de nascimento: / /		Sexo: ()F ()M	
Naturalidade:		Telefone:	
Endereço:			
Bairro:		CEP:	
Respondente deste questionário:		Grau de parentesco:	
Caso o questionário não tenha sido respondido, anotar motivo da recusa:			
Melhor dia/ horário para encontrar em casa:			

INFORMAÇÕES SÓCIO-DEMOGRÁFICAS
1. Qual a cor/raça da criança? () branca () parda () negra () oriental () indígena () não sabe () não respondeu
2. Estado conjugal do responsável pela criança: () solteiro(a) () casado(a) () “amigado(a)” () separado(a) () viúvo (a) () não respondeu
3. Profissão/Ocupação do responsável pela criança:
4. Renda familiar mensal: () até 1 SM- R\$ 678,00 () de 1 até 3 SM- R\$ 678,00 até R\$2034,00 () de 3 até 5 SM- R\$ 2034,00 até R\$ 3390,00 () de 5 até 7 SM- R\$ 3390,00 até R\$4746,00 () mais que 7 SM- R\$ R\$4746,00 OBS: ver questionário ABEP
5. Tipo de residência: () própria () alugada () ganhada () não sabe () não respondeu

() outra, qual:_____
6. Quantas pessoas residem na casa? () 2 () 3 () 4 () 5 () 6 () 7 ou mais
7. A casa possui água encanada (de torneira)? () sim () não () não sabe () não respondeu
8. A água utilizada para beber vem da onde? () toneira () poço () rio () mineral (galão) () outra, qual_____ () não sabe () não respondeu
9. Esta água na sua casa é: () filtrada () fervida () clorada () não sabe () não respondeu () nenhum tratamento caseiro
10. A casa possui caixa d'água? () sim () não () não sabe () não respondeu
10.1 Se sim, A caixa d'água fica tampada? () sim () não () não sabe () não respondeu A caixa d'água recebe limpeza de tempo em tempo? () sim () não () não sabe () não respondeu
11. A casa possui rede coletora de esgoto? () sim () não () não sabe () não respondeu
12. Que local é feito a eliminação de dejetos (fezes e urina)? () vaso sanitário () rio () fossa () no terreno da casa () outra, qual?_____ () não sabe () não respondeu
13. A criança frequenta escola ou creche? () sim () não () não sabe () não respondeu
13.1 Se sim, Qual? () municipal () particular () não sabe () não respondeu Qual o período? () parcial (só de manhã ou só a tarde) () integral (o dia todo)
14. A criança possui contato com outras crianças? () sim () não () não sabe () não respondeu
14.1 Se sim, Onde? () em casa () escola ou creche () rua outro, qual_____ () não sabe () não respondeu

HÁBITOS DE HIGIENE ALIMENTAR

15. A criança tem costume de comer alimentos crus (frutas, verduras, legumes)? () sim () não () não sabe () não respondeu
15. 1 Se sim, Qual a origem desses alimentos crus que a criança consome? () horta em casa () feira () supermercado () doado () outra, qual? _____ () não sabe () não respondeu
Quais alimentos crus a criança costuma comer? () alface () tomate () couve () cheiro-verde () cenoura () outra, qual _____ () não sabe () não respondeu
16. Na casa, possui horta para consumo próprio? () sim () não () não sabe () não respondeu
16. 1 Se sim, Quais verduras/legumes são cultivadas? () alface () tomate () couve () cheiro-verde () cenoura () outra, qual _____ () não sabe () não respondeu
Algum tipo de adubo (esterco) é utilizado nesta horta? () sim () não () não sabe () não respondeu
Se sim, qual? () esterco animal () esterco humano () adubo químico () outro, qual? _____ () não sabe () não respondeu
17. Quais são os cuidados adotados antes do consumo dos alimentos crus? () lavados somente com água () lavados com água e sabão () lavados com água, sabão e bucha () lavados com água e cloro () outro, qual _____ () não sabe () não respondeu

HABITOS COMPORTAMENTAIS E DE HIGIENE PESSOAL

18. A criança tem costume de lavar as mãos antes das refeições? () sim () não () não sabe () não respondeu
19. A criança tem costume de lavar as mãos depois de utilizar o banheiro? () sim () não () não sabe () não respondeu
20. A criança tem costume de lavar as mãos depois de brincar? () sim () não () não sabe () não respondeu
21. Explique como a criança faz para lavar as mãos () utiliza somente água () esfrega com água e sabão () com água, sabão e bucha () outro, como _____ () não sabe () não respondeu
22. A criança possui contato com animais? () sim () não () não sabe () não respondeu
22.1 Se sim, Qual? () cachorro () gato () galinha () papagaio

☐ outro, qual _____ ☐ não sabe ☐ não respondeu Os animais são vermifugados? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu A criança tem contato com as fezes desses animais? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu Depois de brincar com animais a criança tem costume de lavar as mãos? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu
23. A criança tem costume de brincar na areia? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu
24. Quando chove a criança costuma brincar na enxurrada ou locais onde há poças d'água? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu
25. A criança costuma nadar? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu
25.1 Se sim, Onde a criança costuma nadar? ☐ em rio ☐ em represa ☐ em lagos ☐ em piscina de criança ☐ em piscina de adultos ☐ outro, qual _____ ☐ não sabe ☐ não respondeu
26. A criança possui o hábito de ficar com a mão na boca (chupar o dedo/ roer unha)? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu
27. Com que frequência é realizado p corte/limpeza das unhas da criança? ☐ toda semana ☐ de duas em duas semanas ☐ de três em três semanas ☐ de mês em mês ☐ outro, qual _____ ☐ não sabe ☐ não respondeu

PADRÃO E CARACTERÍSTICAS DAS EVACUAÇÕES DAS CRIANÇAS
28. Quantas vezes por dia a criança evacua? ☐ 1-2 ☐ 3-4 ☐ 5-6 ☐ 7-8 ☐ não sabe ☐ não respondeu
29. Qual o aspecto dessas evacuações? ☐ solidas(firmes) ☐ amolecidas ☐ líquidas ☐ não sabe ☐ não respondeu
30. Qual a coloração dessas evacuações? ☐ amarelada ☐ marrom ☐ averdada ☐ escura/preta ☐ acinzentada ☐ não sabe ☐ não respondeu
31. Há presença de sangue nessas evacuações? ☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu
32. Há presença de muco nessas evacuações?

() sim () não () não sabe () não respondeu
33. Com que frequência a criança apresenta quadros de diarreia? (diarreia é quando a criança evacua mais vezes do que o comum, com fezes amolecias ou líquidas) () nunca () raramente () às vezes () quase sempre () sempre () não sabe () não respondeu
34. Você lembra quando foi a última vez que a criança apresentou diarreia? () sim, quando _____ () não () não respondeu
35. Essa diarreia foi acompanhada por sangue? () sim () não () não sabe () não respondeu
36. Essa diarreia foi acompanhada por muco? () sim () não () não sabe () não respondeu
37. Essa diarreia foi acompanhada por outros sintomas? () sim () não () não sabe () não respondeu
37.1 Se sim, Qual(is)? () dores abdominais () vômitos () febre () odor forte Outro(s), qual(is) _____ () não sabe () não respondeu
38. A criança já foi internada em função de quadros de diarreia? () sim () não () não sabe () não respondeu
39. A criança já apresentou diarreia por um período superior a 14 dias? () sim () não () não sabe () não respondeu
39.1 Se sim, Quando? _____
40. A criança já apresentou diarreia por um período superior a 30 dias? () sim () não () não sabe () não respondeu
40.1 Se sim, Quando? _____
41. A criança fez exame de fezes? () sim () não () não sabe () não respondeu
41.1 Se sim, Há quanto tempo fez seu último exame? () ha menos meio ano () entre meio ano e 1 ano () há mais de 1 ano () não sabe () não respondeu A criança apresentou algum “verme”? () sim () não () não sabe () não respondeu Foi indicado algum tratamento? () sim () não () não sabe () não respondeu Qual?

☐ Bactrim ☐ Albendazol ☐ Mebendazol ☐ Nitazoxanida
Outro, qual _____ ☐ não sabe ☐ não respondeu

42. A criança apresentou diarreia no ultimo mês?

☐ sim ☐ não ☐ não sabe ☐ não respondeu

OUTRAS INFORMAÇÕES QUE CONSIDERE IMPORTANTE

APÊNDICE E- Informações complementares extraídas do prontuário do paciente

Registro HCFMRP:		Data da coleta: / /
IDENTIFICAÇÃO		
Nome da criança:		Iniciais:
Data de nascimento: ____/____/____		Sexo: ()F ()M
Naturalidade:		Telefone:
Endereço:		
Bairro:		CEP:

INFORMAÇÕES REFERENTES AO HIV/aids DA CRIANÇA		
1. Data do diagnóstico da criança: ____/____/____		
2. Classificação do HIV na criança:		
N1 ()	N2 ()	N3 ()
A1 ()	A2 ()	A3 ()
B1 ()	B2 ()	B3 ()
C1 ()	C2 ()	C3 ()
3. Carga viral (penúltimo exame): ____ Data: ____/____/____		
Carga viral (último exame): ____ Data: ____/____/____		
Carga viral do (exame pós-análise de fezes): ____ Data: ____/____/____		
4. Contagem de Linfócitos T CD4+ (penúltimo exame): ____ Data: ____/____/____		
Contagem de Linfócitos T CD4+ (último exame): ____ Data: ____/____/____		
Contagem de Linfócitos T CD4+ (exame pós análise de fezes): ____ Data: ____/____/____		
5. Uso de medicação ARV? () sim () não		

5.1 Se sim, Qual?_____
6. Faz uso profilático de : () Bactrim () Albendazol () Mebendazol () Nitazoxanida () outro, qual_____
7. A criança já apresentou diarreia? () sim () não
7.1 Se sim, Quantas vezes?_____
8. A criança já foi internada devido à diarreia? () sim () não Obs:_____
9. Já foi realizado exame de fezes? () sim () não Obs:_____
10. Resultados anteriores de exame de fezes descritos no prontuário:
11. Metodologia empregada no diagnóstico de fezes:

OUTRAS INFORMAÇÕES IMPORTANTES

--

APÊNDICE F- Quadro referente aos dados do questionário respondido pelos responsáveis das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HVFMRP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

n (17)	Cor/raça	Renda familiar mensal	Classe (ABEP)	Tipo de residência	Quantidade de pessoas na residência
1	parda	5 a 7 SM	B2	própria	3
2	parda	1 a 3 SM	C1	própria	4
3	branca	1 a 3 SM	B2	própria	4
4	branca	3 a 5 SM	B2	própria	3
5	negra	até 1 SM	C2	própria	6
6	parda	até 1 SM	D	ganhada	7
7	branca	1 a 3 SM	C1	própria	7
8	parda	1 a 3 SM	C1	alugada	5
9	branca	1 a 3 SM	C2	própria	5
10	parda	1 a 3 SM	C2	alugada	4
11	branca	até 1 SM	C2	própria	7
12	branca	1 a 3 SM	C1	ganhada	5
13	parda	1 a 3 SM	C1	própria	5
14	negra	1 a 3 SM	C1	própria	5
15	parda	1 a 3 SM	C2	própria	4
16	parda	até 1 SM	C1	própria	5
17	parda	1 a 3 SM	C2	própria	5

n (17)	ÁGUA PARA CONSUMO			CAIXA D'ÁGUA			ESGOTO	
	Rede Pública	Consumo	Tratamento caseiro	Possui	Fica tampada	Limpeza constante	Possui rede coletora	Eliminação dos dejetos
1	sim	mineral		sim	sim	sim	sim	vaso sanitário
2	sim	torneira	nenhum	sim	sim	não	sim	vaso sanitário
3	sim	torneira	nenhum	sim	sim	sim	sim	vaso sanitário
4	sim	torneira	nenhum	não	X	X	sim	vaso sanitário
5	sim	torneira	nenhum	sim	sim	sim	sim	vaso sanitário
6	sim	torneira	filtrada	não	x	x	sim	vaso sanitário
7	sim	torneira	filtrada	sim	sim	sim	sim	vaso sanitário
8	sim	torneira	nenhum	não	x	x	sim	vaso sanitário
9	sim	torneira	nenhum	sim	sim	não	sim	vaso sanitário
10	sim	torneira	nenhum	sim	sim	não	sim	vaso sanitário
11	sim	torneira	nenhum	não	x	x	sim	vaso sanitário
12	sim	torneira	filtrada	sim	sim	sim	sim	vaso sanitário
13	sim	torneira	nenhum	sim	sim	sim	sim	vaso sanitário
14	sim	torneira	nenhum	sim	sim	não	sim	vaso sanitário
15	sim	torneira	filtrada	sim	sim	não	sim	vaso sanitário
16	sim	torneira	nenhum	sim	sim	não	sim	vaso sanitário
17	sim	torneira	nenhum	sim	sim	não	sim	vaso sanitário

n= (17)	HIGIENE ALIMENTAR		HIGIENE PESSOAL E HÁBITO DA CRIANÇA				
	Consumo de alimentos crus		Lavagem das mãos				Hábito
	Consumo	Higiene dos alimentos	Antes das refeições	Depois de usar o banheiro	Depois de brincar	Como lava as mãos	Mão na boca
1	não		sim	sim	sim	água e sabão	não
2	sim	só com água	sim	sim	não	água e sabão	não
3	sim	água e cloro	sim	não	sim	água e sabão	não
4	sim	só com água	não	não	não		não
5	sim	água e cloro	não	não	não		sim
6	sim	só com água	sim	sim	sim	água e sabão	não
7	sim	só com água	sim	sim	sim	água e sabão	não
8	sim	só com água	sim	sim	sim	água, sabão e bucha	não
9	não		não	não	não		sim
10	sim	água e vinagre	não	não	não		sim
11	não	só com água	sim	sim	não	água e sabão	não
12	sim	água e vinagre	não	sim	não	água e sabão	não
13	sim	só com água	não	não	sim	água e sabão	não
14	sim	água e cloro	sim	sim	sim	água e sabão	não
15	sim	só com água	não	sim	sim	só água	não
16	sim	água e cloro	sim	sim	sim	água e sabão	não
17	sim	água e sabão	não	sim	sim	água e sabão	não

n (17)	HÁBITOS E COMPORTAMENTOS		
	Brincar em tanques de areia	Brincar em enxurrada	Nadar
1	não	não	piscina de criança
2	sim	não	não
3	não	não	piscina de criança
4	não	não	piscina de adulto
5	sim	não	piscina de criança
6	não	não	não
7	não	sim	piscina de adulto
8	não	não	piscina de criança
9	não	não	não
10	não	não	rio
11	não	não	não
12	não	não	piscina de adulto
13	sim	não	piscina de criança
14	não	não	não
15	sim	não	não
16	sim	sim	rio
17	não	não	piscina de criança

n (17)	CONTATO FREQUENTE COM ANIMAIS		CONTATO FREQUENTE COM CRIANÇAS	
	Possui	São vermifugados	Frequenta escola ou creche	Contato com outras crianças
1	cachorro	sim	sim	escola
2	cachorro	sim	sim	escola
3	cachorro	não	sim	escola, casa, rua
4	cachorro, gato	sim	sim	escola, rua
5	cachorro	sim	sim	escola, rua
6	cachorro	sim	sim	escola, casa, rua
7	cachorro, gato	sim	não	casa, rua
8	cachorro	sim	sim	creche, casa
9	cachorro	não	sim	escola, casa
10	cachorro	não	sim	escola
11	gato	não	sim	escola, casa, rua
12	cachorro, gato	sim	sim	escola, rua
13	cachorro	não	sim	escola, casa, rua
14	cachorro	sim	sim	escola, casa, rua
15	cachorro	sim	sim	escola, casa, rua
16	cachorro	não	sim	escola, casa, rua
17	cachorro	sim	sim	escola, casa, rua

n (17)	EVACUAÇÕES				
	Evacuações por dia	Aspectos	Coloração	Frequência que tem diarreia	Já apresentou muco e/ou sangue
1	1 A 2	sólida/firme	escura/preta	nunca	não
2	1 A 2	sólida/firme	marrom	nunca	não
3	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
4	1 A 2	sólida/firme	marrom	nunca	não
5	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
6	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
7	dias alternados	sólida/firme	marrom	raramente	não
8	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
9	1 A 2	sólida/firme	escura/preta	às vezes	não
10	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
11	1 A 2	sólida/firme	marrom	às vezes	não
12	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
13	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
14	3 A 4	sólida/firme	marrom	raramente	não
15	1 A 2	sólida/firme	marrom	raramente	não
16	3 A 4	sólida/firme	marrom	raramente	não
17	dias alternados	sólida/firme	marrom	quase sempre	não

APÊNDICE G- Quadro referente aos dados que constam nos prontuários das crianças que vivem com HIV/aids atendidas no HVFMRP-USP. Ribeirão Preto. 2013.

n= (17)	EXAMES QUE CONSTAM NO PRONTUÁRIO					
	Internação	Consta exames de fezes	Resultados	Método	Exames para <i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>Cystoisospora</i> spp.	Resultado
1	não	não	x	x	x	x
2	não	não	x	x	x	x
3	não	sim	negativo	Faust e Hoffman Modificado	não	x
4	não	sim	negativo	Faust e Hoffman Modificado	não	x
5	não	sim	negativo	Faust e Hoffman Modificado	não	x
6	sim	sim	negativo	Faust e Hoffman Modificado	não	x
7	não	não	x	x	x	x
8	não	não	x	x	x	x
9	sim	sim	negativo	Faust e Hoffman Modificado	não	x
10	sim	não	x	x		x
11	sim	sim	<i>Giardia</i> spp.	Faust e Hoffman Modificado	sim	negativo
12	não	sim	<i>Giardia</i> spp.	Faust e Hoffman Modificado	não	x
13	não	não	x	x	x	x
14	sim	não	x	x	não	x
15	sim	sim	<i>Giardia</i> spp.	Faust e Hoffman Modificado	sim	negativo
16	não	não	x	x	x	x
17	sim	sim	negativo	x	sim	negativo

ANEXO

ANEXO A- Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (nº159.935)

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE
RIBEIRÃO PRETO - USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Veiculação hídrica de parasitas oportunistas e sua prevalência em crianças com HIV/aids: Cryptosporidium spp., Giardia spp., Cystoisospora spp. e Cyclospora spp.

Pesquisador: Brisa Maria Fregonesi

Área Temática: Área 9. A critério do CEP.

Versão: 4

CAAE: 01288012.5.0000.5393

Instituição Proponente: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto - USP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 159.935

Data da Relatoria: 21/11/2012

Apresentação do Projeto:

O formulário da Plataforma Brasil do Projeto de Pesquisa versão 3 e da versão Word foram reapresentados cotendo as alterações recomendadas do parecer Cep anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Mantem-se inalterado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Atenderam a Resolução 196/96 do CNS para os sujeitos da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores acataram as recomendações do parecer deste CEP e reapresentaram o Projeto de Pesquisa como Versão 3, acrescentando no método a validação por especialistas do instrumento de coleta de dados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi apresentado um TCLE para os especialistas que participarão da validação do instrumento de coleta de dados atendendo a Resolução 196/96 do CNS Item IV.1 e Item IV.2.

O TCLE Versão 3 dos sujeitos da pesquisa foi reapresentado e foram acatadas as recomendações desse CEP.

Recomendações:

Todas as recomendações anteriores foram respondidas e acatadas pelos pesquisadores.

Endereço: BANDEIRANTES 3900

Bairro: VILA MONTE ALEGRE

UF: SP

Telefone: 1636-0233

Município: RIBEIRÃO PRETO

Fax: 1636-0205

CEP: 14.040-902

E-mail: cep@eerp.usp.br

ESCOLA DE ENFERMAGEM DE
RIBEIRÃO PRETO - USP

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido e o formulário do Projeto de Pesquisa da Plataforma Brasil e o Projeto de Pesquisa atendem a Resolução 196/96 do CNS.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Parecer aprovado Ad referendum.

RIBEIRÃO PRETO, 30 de Novembro de 2012

Assinador por:

Claudia Benedita dos Santos
(Coordenador)

Endereço: BANDEIRANTES 3900

Bairro: VILA MONTE ALEGRE

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: 1636-0233

Fax: 1636-0205

CEP: 14.040-902

E-mail: cep@eerp.usp.br